



(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



1-0053598

(51)^{2023.01} A61K 39/00; A61P 31/14; C07K 16/10; (13) B
A61K 39/42

(21) 1-2023-06814

(22) 18/11/2015

(62) 1-2017-01364

(86) PCT/EP2015/002305 18/11/2015

(87) WO/2016/078761 26/05/2016

(30) PCT/EP2014/003076 18/11/2014 EP

(45) 25/11/2025 452

(43) 25/04/2024 433

(73) 1. HUMABS BIOMED SA (CH)

Via Mirasole 1, 6500 Bellinzona, Switzerland

2. Institut Pasteur (FR)

25-28, rue du Dr. Roux, Paris Cedex 15, 75724, France

(72) Davide CORTI (IT); Hervé BOURHY (FR).

(74) Văn phòng Luật sư Ân Nam (ANNAM IP & LAW)

(54) KHÁNG THỂ TRUNG HÒA LÂY NHIỄM LYSSAVIRUT VÀ DƯỢC PHẨM
CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(21) 1-2023-06814

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

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

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

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh dại là một bệnh truyền nhiễm do virus, gây ra viêm nhiễm cấp tính ở não bộ. Bệnh dại phân bố gần như trên toàn thế giới và gây bệnh chủ yếu trên động vật hoang dã và gia súc, tuy nhiên cũng có cả con người, gây ra dịch bệnh tàn phá, mà gần như 100% tử vong ở những cá thể không được nhận phòng ngừa sau phơi nhiễm (post-exposure prophylaxis-PEP). Các triệu chứng ban đầu của bệnh dại bao gồm sốt và ngứa tại vị trí phơi nhiễm. Sau các triệu chứng này là một hoặc nhiều triệu chứng sau đây: cử động quá độ, kích động không kiểm soát được, sợ nước, không thể cử động các bộ phận trên cơ thể, hỗn loạn và mất ý thức. Sau khi xuất hiện các triệu chứng, hầu hết bệnh dại đều dẫn đến tử vong. Thời gian từ lúc mắc bệnh đến khi xuất hiện các triệu chứng thường từ một đến ba tháng. Tuy nhiên, khoảng thời gian này có thể thay đổi từ dưới một tuần đến hơn một năm. <http://en.wikipedia.org/wiki/Rabies> - cite_note-WHO2013-1 Khoảng thời gian phụ thuộc vào khoảng cách mà virus phải di chuyển đến hệ thần kinh trung ương.

Bệnh dại là bệnh do một số lyssavirus gây ra bao gồm virus dại và các lyssavirus khác, ví dụ như lyssavirus dơi Châu Âu.

Lyssavirus có cấu trúc dạng xoắn đối xứng, với chiều dài khoảng 180 nm và mặt cắt ngang khoảng 75nm. Các virus này được bao bọc và có hệ gen ARN sợi đơn

với chiều âm. Thông tin di truyền được đóng gói dưới dạng phức hợp ribonucleoprotein trong đó ARN được gắn chặt bởi nucleoprotein virus. Hệ gen ARN của virus mã hóa cho năm gen mà thứ tự của chúng được bảo toàn cao: nucleoprotein (N), phosphoprotein (P), protein nền (M), glycoprotein (G), và ARN polymeraza của virus (L).

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

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

Bệnh dại là bệnh lan rộng trên toàn thế giới và mỗi năm có gần 10 triệu người

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

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

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

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

“Điều trị” hiện đang được sử dụng khi một người nào đó được giả định bị nhiễm virus được gọi là phòng ngừa sau phơi nhiễm (PEP), liệu pháp này kết hợp các globulin miễn dịch chống bệnh dại (RIG), cụ thể là globulin miễn dịch bệnh dại ở

người và ngựa (lần lượt là HRIG và ERIG), với vaccin bệnh dại. Cụ thể là, bệnh nhân được nhận một liều RIG (tạo miễn dịch thụ động) duy nhất và một vài liều vaccin bệnh dại (tạo miễn dịch chủ động) theo như hướng dẫn của nhà sản xuất vaccin bệnh dại. Theo liệu pháp chuẩn được sử dụng rộng rãi, ví dụ, năm liều vaccin được dùng trong khoảng thời gian trên 28 ngày, tức là, liều vaccin bệnh dại thứ nhất được tiêm sớm nhất có thể ngay sau khi phơi nhiễm, tốt hơn nếu vào ngày 0, các liều tiếp theo được tiêm vào ngày 3, 7, 14, và 28 sau liều đầu tiên (tham khảo trên http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Tollwut.html, lấy vào ngày 12 tháng 11 năm 2014). Ngược lại, globulin miễn dịch chống bệnh dại (RIG) tạo miễn dịch thụ động chỉ được dùng một lần, tốt hơn nếu tại, hoặc sớm nhất có thể ngay sau khi bắt đầu phòng ngừa sau phơi nhiễm. Liều lượng globulin miễn dịch chống bệnh dại ở người (HRIG) theo dự kiến của WHO là 20 IU/kg thể trọng; đối với globulin miễn dịch chống bệnh dại ở ngựa (ERIG) và các sản phẩm F(ab')₂ là 40 IU/kg thể trọng (tham khảo trên <http://www.who.int/rabies/human/>

[WHO_strategy_prepost_exposure/en/index1.html#](http://www.who.int/rabies/human/WHO_strategy_prepost_exposure/en/index1.html#), lấy vào ngày 12 tháng 11 năm 2014). Đặc biệt là, các liều cao hơn có thể làm giảm hiệu quả của vaccin. Tất cả các globulin miễn dịch chống bệnh dại, hoặc biện pháp giải phẫu nhiều nhất có thể để tránh xảy ra hội chứng chèn ép khoang, nên được cung cấp vào trong vào hoặc ở xung quanh vị trí hoặc các vị trí vết thương. Globulin miễn dịch còn lại, nếu có, nên được tiêm bắp tại vị trí cách xa vị trí chủng ngừa vaccin. Globulin miễn dịch chống bệnh dại có thể được pha loãng đến một thể tích đủ cho tất cả các vết thương để thâm nhiễm một cách hiệu quả và an toàn. (tham khảo trên http://www.who.int/rabies/human/WHO_strategy_prepost_exposure/en/index1.html#, lấy vào ngày 12 tháng 11 năm 2014). Liệu pháp này thường có hiệu quả nếu nó được dùng từ 24-48 giờ sau khi phơi nhiễm. HRIG được sử dụng rộng rãi, đặc biệt là ở các nước phát triển, và được coi là an toàn hơn so với ERIG. Giá thành HRIG cao và số lượng ít khiến HRIG không được sử dụng rộng rãi ở các nước đang phát triển. Hơn nữa, vaccin và HRIG hoặc ERIG không có hiệu quả bảo vệ chống lại lây nhiễm với các loài lyssavirus khác (mức độ bảo vệ tỷ lệ nghịch với khoảng cách di truyền với chủng vaccin). Do đó, cần phải thay thế HRIG bằng ít nhất một sản phẩm trên cơ sở kháng thể bệnh dại an toàn hơn và có hiệu lực tương đương được xem là vô cùng quan trọng để cải thiện khả năng tiếp cận với sinh học bệnh dại, đặc biệt là ở những nước

đang phát triển.

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

Babcock GJ, Thomas WD, Jr, et al (2007) Identification and characterization of a human monoclonal antibody that potently neutralizes a broad panel of rabies virus isolates. *Vaccine* 25: 2800-2810). Trong trường hợp này nguy cơ PEP thất bại, ít nhất là về lý thuyết, cao hơn so với trường hợp của dung dịch hỗn hợp kháng thể CR57 và CR4098. Những nghiên cứu này chỉ ra rằng, các kháng thể CR4098 và RAB1 có độ rộng phản ứng hạn chế đối với chủng không phải RABV và phần lớn các chủng RABV được thử nghiệm không bị trung hòa hoặc bị trung hòa rất yếu bởi các kháng thể liên kết với vị trí kháng nguyên III này. Thật vậy, do thiếu lượng lớn RABV che phủ nên nghiên cứu CL184 gần đây bị dừng lại, trong khi RAB1 vẫn đang được nghiên cứu phát triển trong giai đoạn 2/3 ở Ấn Độ.

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

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

RABV có thể đã xâm nhập tới các mô thần kinh trung ương và cũng đã xuất hiện các dấu hiệu sớm hoặc muộn của bệnh. Những bệnh nhân này có thể được hưởng lợi từ việc điều trị bằng kháng thể trung hòa hiệu quả cao mà có thể đi qua hàng rào máu não (hoặc được dùng trực tiếp cho hệ thần kinh trung ương - CSN) phân phối lượng kháng thể đủ để trung hòa hiệu quả sự nhân lên của virus trong các mô thần kinh trung ương.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

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

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

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

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

Fig. 2 trình bày kết quả về khả năng liên kết với G-protein của RABV (A) và khả năng trung hòa (B) lần lượt của một tập hợp gồm 90 mẫu và 29 mẫu huyết tương từ vacxin RABV. Ký hiệu màu đen đại diện cho HRIG (Berirab®), kí hiệu màu xám đại diện cho 4 người cho được chọn để thăm vấn tế bào B ghi nhớ.

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

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

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

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

Fig. 7 trình bày kết quả của việc trung hòa 13 loài lyssavirus khác nhau được thử nghiệm dưới dạng virus kiểu giả (A, 22 chủng virus) hoặc các virus lây nhiễm (B, 16 chủng virus) bằng cách chọn 12 kháng thể đơn dòng người từ tập hợp đã phân lập so sánh với hai kháng thể tham chiếu CR57 và CR4098 và các globulin miễn dịch người đa dòng (HRIG, Berirab®).

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

Fig. 9 trình bày kết quả của phản ứng trung hòa các chủng RABV được thử nghiệm dưới dạng virut kiểu giả (các chấm tròn đầy, n=2) hoặc virut (các chấm tròn rỗng, n=24) bằng kháng thể RVC20 và RVC58 được chọn từ tập hợp các kháng thể của chúng tôi và hai kháng thể tham chiếu CR57 và CR4098.

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

Fig. 11 trình bày vắn tắt về 43 chủng RABV thử nghiệm. Hoạt tính trung hòa (giá trị IC_{50} đối với virut và giá trị IC_{90} đối với virut kiểu giả dưới dạng ng/ml) của các

kháng thể đơn dòng RVC20, RVC58, CR57, CR4098 và RAB1 và HRIG như được trình bày trong Fig. 10. RFFIT, thử nghiệm ức chế điểm huỳnh quang nhanh; FAVN, thử nghiệm trung hòa virus bằng kháng thể huỳnh quang; PV, thử nghiệm trung hòa trên cơ sở virus kiểu giả. *, các virus được thử nghiệm bằng FACS về khả năng liên kết với các thể biến nạp protein G.

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

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

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

Fig. 15 trình bày rằng các kháng thể RVC20 và RVC58 hướng đích các quyết định kháng nguyên bảo thủ cao trong các vị trí kháng nguyên I và III. Mức độ bảo thủ của gốc axit amin trong vị trí kháng nguyên I và III được tính toán bằng cách phân tích trình tự G-protein từ 2566 RABV. Biểu đồ tròn trình bày sự phân bố chi tiết việc sử dụng axit amin tại mỗi vị trí. Các gốc được gạch chân dùng để chỉ virus mang gốc tương ứng tại vị trí này được trung hòa bởi kháng thể RVC20 hoặc RVC58. (A) tần

suất xuất hiện các gốc axit amin tại vị trí kháng nguyên I; (B) tần suất xuất hiện các gốc axit amin tại vị trí kháng nguyên III.

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

Fig. 17 trình bày tỷ lệ sống sót của chuột đồng Xy-ri bị lây nhiễm với chủng RABV CVS-11 và sau đó không được điều trị hoặc được điều trị với PEP tiêu chuẩn (HRIG và chủng ngừa vaccin) hoặc với hai liều khác nhau của dung dịch hỗn hợp các kháng thể đơn dòng RVC20+RVC58 (và chủng ngừa vaccin). Virut RABV được tiêm bắp (50 μ l của $10^{5.7}$ TCID₅₀/ml) vào cơ bụng chân ở chân trái sau. Vaccin được sử dụng là vaccin tế bào lượng bội người bất hoạt có trên thị trường (Imovax; Sanofi-Pasteur) và được tiêm bắp (0,05 ml) vào cơ chân bụng ở chân phải sau.

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

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

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

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

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

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

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

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

Fig. 25 trình bày trình tự axit amin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVB492 cũng như trình tự axit nucleic mã hóa chúng. Các trình tự được in đậm là vùng CDR (nucleotit hoặc aa) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự “dòng mầm”.

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

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

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

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

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

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

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

Fig. 33 trình bày trình tự axit amin trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể RVC111 cũng như trình tự axit nucleic mã hóa chúng. Các trình tự được in đậm là vùng CDR (nucleotit hoặc aa) và các gốc được gạch chân là các gốc bị đột biến so với trình tự “dòng mầm”.

Mô tả chi tiết sáng chế

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

không bị giới hạn ở các phương pháp, quy trình và các chất phản ứng cụ thể được mô tả dưới đây vì chúng có thể thay đổi. Cũng cần phải hiểu rằng, thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này không được dự tính để làm giới hạn phạm vi của sáng chế, phạm vi của sáng chế sẽ chỉ bị giới hạn bởi yêu cầu bảo hộ. Trừ khi được chỉ ra theo cách khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả này có cùng một nghĩa như thường được hiểu bởi những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế.

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

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

Thuật ngữ “một” và “một” và “một (có xác định)” và các thuật ngữ tương tự được sử dụng trong mô tả sáng chế (đặc biệt là trong yêu cầu bảo hộ) được hiểu là bao gồm cả số ít và số nhiều, trừ khi được chỉ ra khác ở đây hoặc khác với ngữ cảnh.

Việc trích dẫn lại khoảng giá trị ở đây chỉ đơn thuần nhằm mục đích đảm nhiệm

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

Từ “gần như” được sử dụng ở đây có nghĩa là “hoàn toàn” ví dụ, hợp chất “gần như không chứa” Y có thể là hoàn toàn không chứa Y. Khi cần, từ “gần như” có thể được bỏ qua trong định nghĩa của sáng chế.

Thuật ngữ “khoảng” có liên quan tới giá trị x dạng số có nghĩa là $x \pm 10\%$.

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

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

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

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

khả năng trung hòa” ở đây có thể sử dụng hoán đổi cho nhau. Những kháng thể này có thể sử dụng một mình hoặc sử dụng kết hợp để làm tác nhân điều trị hoặc phòng ngừa bệnh theo dạng bào chế thích hợp, kết hợp với việc chủng ngừa vacxin hoạt hóa để làm công cụ chẩn đoán, hoặc làm công cụ sản xuất như được mô tả ở đây.

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

Thuật ngữ “liên kết đặc hiệu” và các thuật ngữ tương tự không bao gồm liên kết không đặc hiệu.

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

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

protein G của RABV (và không phải RABV).

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

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

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

Mặc dù có thể có các đột biến thay thế axit amin không bảo thủ, được ưu tiên là nếu thay thế là thay thế axit amin bảo thủ, trong đó axit amin được thế có đặc tính cấu trúc hoặc hóa học tương tự với axit amin tương ứng trong trình tự tham chiếu. Các ví dụ về đột biến thay thế axit amin bảo thủ bao gồm thay thế một axit amin béo hoặc kỵ nước, ví dụ alanin, valin, leuxin và isoleuxin bằng axit amin giống hệt; thay thế một

axit amin chứa nhóm hydroxyl, ví dụ serin và threonin bằng axit amin giống hệt, thay thế một gốc axit, ví dụ axit glutamic hoặc axit aspartic bằng một axit giống hệt, thay thế một gốc chứa amit, ví dụ, asparagin và glutamin bằng một gốc giống hệt; thay thế một gốc thơm, ví dụ, phenylalanin và tyrosin bằng một gốc giống hệt; thay thế một gốc bazơ ví dụ, lysin, arginin và histidin bằng một gốc giống hệt; và thay thế một axit amin nhỏ, ví dụ, alanin, serin, threonin, methionin, và glyxin bằng một axit amin giống hệt.

Chèn thêm trình tự axit amin bao gồm hợp nhất đầu carboxyl và/hoặc đầu amino có chiều dài từ một gốc đến chuỗi polypeptit chứa một trăm hoặc nhiều hơn một trăm gốc, cũng như chèn thêm trong chuỗi một hoặc nhiều gốc axit amin. Các ví dụ về việc chèn thêm vào đầu bao gồm hợp nhất với đầu N hoặc đầu C của trình tự axit amin với phân tử báo cáo hoặc một enzym.

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

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

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

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

Sáng chế dựa trên các phát hiện khác, trên sự khám phá và phân lập các kháng thể có hiệu quả cao trong việc trung hòa RABV và lyssavirut không phải RABV, cũng như các vị trí kháng nguyên và các quyết định kháng nguyên mà các kháng thể theo sáng chế liên kết với. Các kháng thể này là các kháng thể mong muốn thu được, vì chỉ cần một lượng nhỏ kháng thể để trung hòa lây nhiễm RABV và lyssavirut không phải RABV bằng một kháng thể đơn. Mỗi kháng thể đơn theo sáng chế có khả năng ngăn ngừa cũng như điều trị hoặc làm thuyên giảm một cách hiệu quả lây nhiễm RABV hoặc lyssavirut không phải RABV. Nhờ đó, chi phí sản xuất dược phẩm chứa kháng thể dùng để điều trị lây nhiễm RABV và lyssavirut không phải RABV giảm xuống.

Hơn nữa, kháng thể theo sáng chế không chỉ trung hòa RABV mà còn trung hòa lyssavirut không phải RABV, các chủng này cũng là nguyên nhân gây bệnh dại, một cách mạnh mẽ và hiệu quả. Đối với RABV, kháng thể theo sáng chế nhận biết các mức độ đột biến rộng, xảy ra một cách tự nhiên trong quyết định kháng nguyên, do đó tránh được các chủng RABV kháng. Ngoài ra, các vị trí kháng nguyên peptit hoặc polypeptit sinh miễn dịch có chứa các quyết định kháng nguyên được nhận biết bởi kháng thể theo sáng chế có thể là thành phần của vacxin hoặc liệu pháp kết hợp có khả năng tạo ra sự bảo vệ chống lại RABV và lyssavirut không phải RABV (phản xạ tạo miễn dịch chủ động).

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

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

“Ít nhất 50% lyssavirut không phải RABV được chọn từ nhóm chỉ bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV” dùng để chỉ ít nhất 50% trong số các loài virut Duvenhage

(DUVV), lyssavirus doi châu Âu typ 1 (EBLV-1) và typ 2 (EBLV-2), lyssavirus doi Úc (ABLV), virus Irkut (IRKV), virus Khujand (KHUV), virus Aravan (ARAV), virus doi Lagos (LBV), virus Mokola (MOKV), virus doi Shimoni (SHIV hoặc SHIBV), lyssavirus doi Bokeloh (BBLV), và virus doi Cáp-ca phương Tây (WCBV), tức là ít nhất 6 loài trong số 12 loài đã nêu ở trên.

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

“Ít nhất 50% lyssavirus không phải RABV được chọn từ nhóm chỉ bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV, WCBV và IKOV” dùng để chỉ ít nhất 50% trong số các loài virus Duvénhage (DUVV), lyssavirus doi châu Âu typ 1 (EBLV-1) và typ 2 (EBLV-2), lyssavirus doi Úc (ABLV), virus Irkut (IRKV), virus Khujand (KHUV), virus Aravan (ARAV), virus doi Lagos (LBV), virus Mokola (MOKV), virus doi Shimoni (SHIBV), lyssavirus doi Bokeloh (BBLV), virus doi Cáp-ca phương Tây (WCBV) và lyssavirus Ikoma (IKOV), tức là ít nhất 7 loài trong số 13 loài đã nêu ở trên.

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

Tốt hơn nếu, đạt được giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml với các virus lây nhiễm, tức là, cụ thể là không với virus kiểu giả.

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

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

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

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

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

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

Bảng 1: Các chủng lyssavirus không phải RABV.

Tên chủng	Loài virut	Nhóm loài
ABLV/Úc/doi/9810AUS-1998/V1039-2011	ABLV	I
98010	ABLV	I
1301 lyssavirut doi Bokeloh	BBLV	I
86132SA	DUVV	I
DUW/Nam Phi/con người/96132SA-1971/RS639-2012	DUVV	I
EBLV1a/Pháp/doi/122938-2002/V3951 -2009	EBLV-1	I
EBLV1b/Pháp/doi/8918-1989	EBLV-1	I
EBLV2/Anh/doi/RV1332-2002/V3951-2009	EBLV-2	I
94112	EBLV-2	I
02053	EBLV-2	I
8619	LBV	II
MOK	MOK	II
Virut doi Shimoni	SHIV	II
Virut doi Cap-ca phương Tây	WCBV	III
Lyssavirut doi Úc/RV634	ABLV	I
Virut Aravan	ARAV	I
Virut Duvenhage RSA2006	DUVV	I
Virut Duvenhage ZIM86-RV 131	DUVV	I
Lyssavirut doi châu Âu 1.RV20	EBLV-1	I
Lyssavirut doi châu Âu 1.RV9	EBLV-1	I
EBLV 1a/Pháp/doi/122938-2002/V3951-2009*	EBLV-1	I
EBLV2/Anh/doi/RV1332-2002/V3951-2009*	EBLV-2	I
Lyssavirut doi châu Âu 2.RV1787	EBLV-2	I

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

*chủng tương tự được thử nghiệm dưới dạng virus kiểu giả và virus lây nhiễm.

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

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

ng/ml.

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

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

Do đó, theo một phương án ưu tiên, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập, biến thể kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm lyssavirus gây ra bởi (i) RABV và (ii) ít nhất 50% trong số các chủng lyssavirus không phải RABV được chọn từ nhóm chỉ bao gồm ABLV/Úc/doi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 lyssavirus doi Bokeloh /BBLV, 86132SA /DUVV, DUVV/Nam Phi/con người/96132SA-1971/RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/doi/122938-2002/V3951 -2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/doi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/Anh/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2, 02053/EBLV-2, 8619/LBV, MOK/MOK, virus doi Shimoni/SHIV, virus doi Cap-ca phương Tây/WCBV, lyssavirus doi Úc/RV634/ABLV, virus Aravan/ARAV, virus Duvenhage RSA2006/DUVV, virus Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, lyssavirus doi

châu Âu 1.RV20/EBLV-1, lyssavirus doi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/doi/122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/ANH/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, lyssavirus doi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, lyssavirus doi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, virus Irkut/IRKV, virus Khujand/KHUV, 8619/LBV, virus doi Lagos NIG56-RV1/LBV, virus doi Lagos SA2004/LBV, virus Mokola NIG68.RV4/MOK, virus Mokola 98/071 RA36/MOK và lyssavirus Ikoma /IKOV với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với ABLV/Úc/doi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 lyssavirus doi Bokeloh /BBLV, 86132SA /DUVV, DUVV/Nam Phi/con người/96132SA-1971/RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/doi/122938-2002/V3951 -2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/doi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/Anh/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2, 02053/EBLV-2, 8619/LBV, MOK/MOK được thử nghiệm dưới dạng virus lây nhiễm và với giá trị IC_{90} nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với virus doi Shimoni/SHIV, virus doi Cap-ca phương Tây /WCBV, lyssavirus doi Úc/RV634/ABLV, virus Aravan/ARAV, virus Duvenhage RSA2006/DUVV, virus Duvenhage ZIM86-RV131/DUVV, lyssavirus doi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, lyssavirus doi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/doi/122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/ANH/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, lyssavirus doi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, lyssavirus doi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, virus Irkut/IRKV, virus Khujand/KHUV, 8619/LBV, virus doi Lagos NIG56-RV1/LBV, virus doi Lagos SA2004/LBV, virus Mokola NIG68.RV4/MOK, virus Mokola 98/071 RA36/MOK và lyssavirus Ikoma /IKOV được thử nghiệm dưới dạng virus kiểu giả.

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

SHIV, BBLV và WCBV, với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml như được mô tả ở trên (bao gồm các phương án ưu tiên đã mô tả ở trên của nó)

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

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

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

Nhìn chung, thử nghiệm trung hòa thường đo sự mất đi khả năng lây nhiễm của virus qua phản ứng của virus với các kháng thể đặc hiệu. Thông thường, mất khả năng lây nhiễm có nguyên nhân là do sự can thiệp của các kháng thể vào các bước nhân lên của virus bao gồm liên kết với tế bào đích, xâm nhập, và/hoặc giải phóng virus. Các ví dụ không giới hạn về thử nghiệm trung hòa sau đây được đưa ra để minh họa nguyên lý: một lượng virus nhất định, ví dụ 50-100 TCID₅₀ (liều lây nhiễm 50% nuôi cấy mô) và các nồng độ khác của kháng thể được trộn đều dưới các điều kiện thích hợp, ví

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

Tốt hơn nếu, đối với kháng thể theo sáng chế, giá trị IC₅₀ (tức là nồng độ để trung hòa 50%) trong thử nghiệm trung hòa virus lây nhiễm như được mô tả ở trên nhỏ hơn 10000 ng/ml, tức là, liên quan đến virus lây nhiễm, trong khi đó, trên cùng một kháng thể, giá trị IC₉₀ (tức là nồng độ để trung hòa 90%) trong thử nghiệm trung hòa virus kiểu giả như được mô tả ở trên nhỏ hơn 10000 ng/ml, tức là liên quan đến virus kiểu giả.

Hơn nữa, tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế trung hòa lây nhiễm lyssavirus gây ra bởi ít nhất 70% lyssavirus không phải RABV nhóm loài I được chọn từ nhóm chỉ bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, và ARAV, với giá trị IC₅₀ nhỏ hơn 10000 ng/ml. Từ đó, “ít nhất 70%” của các loài đã nêu ở trên có nghĩa là ít nhất 5 trên 7 loài. Lây nhiễm của một loài lyssavirus được xem là được trung hòa với giá trị IC₅₀ nhỏ hơn 10000 ng/ml, nếu ít nhất một loài trong số các loài lyssavirus này được trung hòa với giá trị IC₅₀ nhỏ hơn 10000 ng/ml. Tốt hơn nếu, kháng thể được phân lập, biến thể kháng thể, mảnh liên kết kháng nguyên của nó trung hòa lây nhiễm lyssavirus gây ra bởi ít nhất 70% lyssavirus không phải RABV nhóm loài I được chọn từ nhóm chỉ bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV và BBLV với giá trị IC₅₀ nhỏ hơn 10000 ng/ml. Từ đó, “ít nhất 70%” của các loài đã nêu ở trên có nghĩa là ít nhất 6 trên

8 loài. Tỷ lệ nhiễm của một loài lyssavirus được xem là trung hòa với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml, nếu ít nhất một loài trong số các chủng lyssavirus này được trung hòa với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 ng/ml.

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

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

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

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

Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, lyssavirus doi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, lyssavirus doi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/doi/122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/ANH/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, lyssavirus doi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, lyssavirus doi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, virus Irkut/IRKV và virus Khujand/KHUV được thử nghiệm dưới dạng virus kiểu giả.

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

Lưu ý, không kháng thể nào trong số các kháng thể đơn dòng người CR57, CR4098 và RAB1 trong lĩnh vực kỹ thuật trước đó trung hòa EBLV-1 (tham khảo Fig. 5 và 6). Tuy nhiên, bệnh dại do lyssavirus doi châu Âu typ 1 xuất hiện ở nhiều nước châu Âu và doi được liệt kê là loài được bảo vệ ở châu Âu.

Bệnh gây tử vong ở người và được mô tả ở châu Âu sau một vết doi cắn. Chủng ngừa vacxin trước phơi nhiễm và điều trị sau phơi nhiễm bệnh dại được khuyến dùng cho những người có công việc phải tiếp xúc với doi và việc điều trị cho những du khách quốc tế sau khi bị doi cắn cũng được khuyến cáo sử dụng (Stantic-Pavlinic M. (2005) *Eurosurveillance*, Volume 10, Issue 11), tuy nhiên, như được thể hiện trong các Fig. 5 và 6, HRIG hầu như không trung hòa EBLV-1. Do đó, cần phải có kháng thể (người) trung hòa EBLV-1.

Cũng được ưu tiên là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế trung hòa lây nhiễm gây ra bởi RABV CVS-11 với giá trị IC_{90} là 400 ng/ml hoặc thấp hơn, tốt hơn nếu giá trị IC_{90} là 100 ng/ml hoặc thấp hơn, tốt hơn nếu giá trị IC_{90} là 50 ng/ml hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa nếu giá trị IC_{90} là 1 ng/ml hoặc thấp hơn.

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

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

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

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

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

$F(ab')_2$ và Fv. Sáng chế cũng bao gồm các mảnh Fv đơn chuỗi (scFv) có nguồn gốc từ chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể theo sáng chế. Ví dụ, sáng chế bao gồm mảnh scFv có chứa các CDR từ kháng thể theo sáng chế. Sáng chế cũng bao gồm các monomer và dimer chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, kháng thể có một vùng chuỗi nặng, kháng thể có một vùng chuỗi nhẹ, cũng như các kháng thể đơn chuỗi, ví dụ, Fv đơn chuỗi trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được liên kết bằng liên kết peptit.

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

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

Tốt hơn nữa, các CDR, cụ thể là CDRH3, của kháng thể theo sáng chế có nguồn

gốc từ kháng thể phát triển ở người. Cụ thể là, các CDR, cụ thể là CDRH3, của kháng thể theo sáng chế là kháng thể nguồn gốc người hoặc các biến thể trình tự chức năng của nó.

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

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

đề cập ở trên là các biến thể trình tự chức năng cụ thể, ví dụ, trong đó chức năng liên kết kháng thể với protein G (glycoprotein G) của RABV (và virus không phải RABV) được giữ nguyên.

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

Bảng 2 trình bày số SEQ ID của trình tự axit amin của lần lượt sáu CDR của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, của kháng thể minh họa theo sáng chế.

Bảng 2. Số SEQ ID của polypeptit CDR của kháng thể minh họa theo sáng chế.

	Số SEQ ID của chuỗi polypeptit CDR					
	CDRH1	CDRH2	CDRH3	CDRL1	CDRL2	CDRL3
RVA122	1	2	3	4	5/6	7
RVA144	19	20	21	22	23/24	25
RVB185	37	38	39	40	41/42	43
RVB492	55	56	57	58	59/60	61
RVC3	75	76	77	78	79/80	81
RVC20	93	94	95	96	97/98	99
RVC21	111	112	113	114	115/116	117
RVC38	129	130	131	132	133/134	135
RVC44	147	148	149	150	151/152	153
RVC58	165	166	167	168	169/170	171
RVC68	183	184	185	186	187/188	189

RVC111	201	202	203	204	205/206	207
--------	-----	-----	-----	-----	---------	-----

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

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

Tốt hơn nữa, trình tự kháng thể biến thể có thể chia sẻ 70% hoặc nhiều hơn (tức là, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc nhiều hơn) độ tương đồng trình tự axit amin với các trình tự trích dẫn trong sáng chế. Các biến thể này thường có độ tương đồng so với các trình tự được liệt kê trong bản mô tả này trong các CDR thuộc vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) lớn hơn so với vùng sườn. Như đã được biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, đột biến được cho phép nhiều hơn, tức là, hạn chế hoặc không làm mất chức năng (ví dụ, khả năng đặc hiệu hoặc trung hòa) trong vùng sườn so với các CDR.

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

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

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

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

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm hai

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

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

171, 189, hoặc 201.

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

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

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

Tốt hơn nữa, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm sáu CDR có trình tự tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1-7, 19-25, 37-43, 55-61, 75-81, 93-99, 111-117, 129-135, 147-153, 165-171, 183-189, và 201-207. Do đó, tốt hơn nữa, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm sáu CDR được chọn từ nhóm chỉ bao gồm CDRH1 mà tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1, 19, 37, 55, 75, 93, 111, 129, 147, 165, 183 hoặc 201, CDRH2 mà tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2, 20, 38, 56, 76, 94, 112, 130, 148, 166, 184, hoặc 202; và CDRH3 mà tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, 21, 39, 57, 77, 95, 113, 131, 149, 167, 185, hoặc 203, CDRL1 mà tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 4, 22, 40, 58, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, hoặc 204, CDRL2 mà tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 5, 6, 23, 24, 41, 42, 59, 60, 79, 80, 97, 98, 115, 116, 133, 134, 151, 152, 169, 170, 187, 188, 205, hoặc 206, và CDRL3 mà tương đồng ít nhất 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 7, 25, 43, 61, 81, 99, 117, 135, 153, 171, 189, hoặc 201. Tốt hơn nữa nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm: (i) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1-5 và 7 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1-4 và 6-7; (ii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 19-23 và 25 hoặc lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 19-22 và 24-25; (iii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 37-41 và 43 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 37-40 và 42-43; (iv) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 55-59 và

61 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 55-58 và 60-61; (v) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 75-79 và 81 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 75-78 và 80-81; (vi) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99; (vii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 111-115 và 117 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 111-114 và 116-117; (viii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129-133 và 135 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 129-132 và 134-135; (ix) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 147-151 và 153 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 147-150 và 152-153; (x) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171; (xi) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183-187 và 189 hoặc với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 183-186 và 188-189; (xii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn là tương đồng ít nhất 90% lần lượt với các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 201-205 và 207 hoặc với các trình tự axit amin nêu

trong SEQ ID NO: 201-204 và 206-207.

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

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

Tốt hơn nữa nếu, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế, bao chứa: (i) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 1-5 và 7 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 1-4 và 6-7; (ii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 19-23 và 25 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 19-22 và 24-25; (iii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 37-41 và 43 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 37-40 và 42-43; (iv) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 55-59 và 61 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 55-58 và 60-61; (v) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 75-79 và 81 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 75-78 và 80-81; (vi) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99; (vii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ

lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 111-115 và 117 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 111-114 và 116-117; (ix) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 147-150 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 152-153; (x) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 165-169 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 170-171; (xi) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 183-187 và 189 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 183-186 và 188-189; (xii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt nêu trong SEQ ID NO: 201-205 và 207 hoặc nêu trong SEQ ID NO: 201-204 và 206-207.

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

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

(vi) SEQ ID NO: 93 cho CDRH1, SEQ ID NO: 94 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 95 cho CDRH3; (vii) SEQ ID NO: 111 cho CDRH1, SEQ ID NO: 112 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 113 cho CDRH3; (viii) SEQ ID NO: 129 cho CDRH1, SEQ ID NO: 130 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 131 cho CDRH3; (ix) SEQ ID NO: 147 cho CDRH1, SEQ ID NO: 148 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 149 cho CDRH3; (x) SEQ ID NO: 165 cho CDRH1, SEQ ID NO: 166 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 167 cho CDRH3; (xi) SEQ ID NO: 183 cho CDRH1, SEQ ID NO: 184 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 185 cho CDRH3; hoặc (xii) SEQ ID NO: 201 cho CDRH1, SEQ ID NO: 202 cho CDRH2, và SEQ ID NO: 203 cho CDRH3.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4, 22, 40, 58, 78, 96, 114, 132, 150, 168, 186, hoặc 204 hoặc các biến thể trình tự của nó; CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 6, 23, 24, 41, 42, 59, 60, 79, 80, 97, 98, 115, 116, 133, 134, 151, 152, 169, 170, 187, 188, 205, hoặc 206 hoặc các biến thể trình tự của nó; CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 7, 25, 43, 61, 81, 99, 117, 135, 153, 171, 189, hoặc 201 hoặc các biến thể trình tự của nó. Theo các phương án nhất định, kháng thể hoặc mảnh kháng thể như được đề cập đến ở đây bao gồm chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong (i) SEQ ID NO: 4 cho CDRL1, SEQ ID NO: 5 hoặc 6 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 7 cho CDRL3; (ii) SEQ ID NO: 22 cho CDRL1, SEQ ID NO: 23 hoặc 24 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 25 cho CDRL3; (iii) SEQ ID NO: 40 cho CDRL1, SEQ ID NO: 41 hoặc 42 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 43 cho CDRL3; (iv) SEQ ID NO: 58 cho CDRL1, SEQ ID NO: 59 hoặc 60 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 61 cho CDRL3; (v) SEQ ID NO: 78 cho CDRL1, SEQ ID NO: 79 hoặc 80 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 81 cho CDRL3; (vi) SEQ ID NO: 96 cho CDRL1, SEQ ID NO: 97 hoặc 98 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 99 cho CDRL3; (vii) SEQ ID NO: 114 cho CDRL1, SEQ ID NO: 115 hoặc 116 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 117 cho CDRL3; (viii) SEQ ID NO: 132 cho CDRL1, SEQ ID NO: 133 hoặc 134 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 135 cho CDRL3; (ix) SEQ ID NO: 150 cho CDRL1, SEQ ID NO: 151 hoặc 152 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 152 cho CDRL3; (x) SEQ ID NO: 168 cho CDRL1, SEQ ID NO: 169 hoặc 170 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 171 cho CDRL3; (xi) SEQ ID NO: 186 cho CDRL1, SEQ ID NO: 187 hoặc 188 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 189 cho CDRL3; hoặc (xii) SEQ ID NO: 204

cho CDRL1, SEQ ID NO: 205 hoặc 206 cho CDRL2, và SEQ ID NO: 207 cho CDRL3.

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

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo như gRVA122, gRVA144, gRVB185, gRVB492, gRVC3, gRVC20, gRVC21, gRVC38, gRVC44, gRVC58, gRVC68, hoặc gRVC111, tốt hơn nếu theo như gRVC20 hoặc gRVC58. Tốt hơn nữa nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó là RVA122, RVA144, RVB185, RVB492, RVC3, RVC20, RVC21, RVC38, RVC44, RVC58, RVC68, hoặc RVC111, tốt hơn nếu là RVC20 hoặc RVC58.

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

Như được sử dụng ở đây, “gRVA122” dùng để chỉ kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 1, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRI1 theo SEQ ID NO: 8, trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 2, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 9, trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 3, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3

theo SEQ ID NO: 10, trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 4, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 11, trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 5 hoặc 6, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 12 hoặc 13, và trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 7, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 14. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của “gRVA122” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 15, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 17, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của “gRVA122” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 16, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 18.

Như được sử dụng ở đây, “gRVA144” dùng để chỉ kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 19, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 26, trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 20, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 27, trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 21, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 28, trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 22, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 29, trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 23 hoặc 24, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 30 hoặc 31, và trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 25, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 32. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của “gRVA144” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 33, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 35, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của “gRVA144” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 34, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 36.

Như được sử dụng ở đây, “gRVA185” dùng để chỉ kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 37, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 44, trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 38, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 45, trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 39, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 46, trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 40, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 47, trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 41 hoặc 42, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 48 hoặc 49, và trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 43, được mã hóa bởi

trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 50. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của “gRVA185” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 51, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 52, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của “gRVA185” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 53, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 54.

Như được sử dụng ở đây, “gRVA492” dùng để chỉ kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 55, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 62, trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 56, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 63, trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 57, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 64, trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 58, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 65, trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 59 hoặc 60, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 66 hoặc 67, và trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 61, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 68. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của “gRVA492” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 69 hoặc 70, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 72 hoặc 73, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của “gRVA492” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 71, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 74.

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

NO: 92.

Như được sử dụng ở đây, “gRVC20” dùng để chỉ kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 93, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 100, trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 94, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 101, trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 95, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 102, trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 96, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 103, trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 97 hoặc 98, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 104 hoặc 105, và trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 99, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 106. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của “gRVC20” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 107, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 109, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của “gRVC20” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 108, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 110.

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

Như được sử dụng ở đây, “gRVC38” dùng để chỉ kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 129, được mã

hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 136, trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 130, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 137, trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 131, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 138, trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 132, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 139, trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 133 hoặc 134, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 140 hoặc 141, và trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 135, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 142. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của “gRVC38” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 143, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 145, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của “gRVC38” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 144, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 146.

Như được sử dụng ở đây, “gRVC44” dùng để chỉ kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 147, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 154, trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 148, được mã hóa bởi trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 155, trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 149, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 156, trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 150, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 157, trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 151 hoặc 152, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 158 hoặc 159, và trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 153, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 160. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của “gRVC44” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 161, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 163, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của “gRVC44” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 162, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 164.

Như được sử dụng ở đây, “gRVC58” dùng để chỉ kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 165, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 172, trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 166, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 173, trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 167, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 174, trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO:

168, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 175, trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 169 hoặc 170, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 176 hoặc 177, và trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 171, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 178. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của “gRVC58” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 179, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 181, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của “gRVC58” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 180, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 182.

Như được sử dụng ở đây, “gRVC68” dùng để chỉ kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 183, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 190, trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 184, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 191, trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 185, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 192, trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 186, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 193, trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 187 hoặc 188, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 194 hoặc 195, và trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 189, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 196. Vùng biến đổi chuỗi nặng (V_H) của “gRVC68” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 197, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 199, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của “gRVC68” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 198, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 200.

Như được sử dụng ở đây, “gRVC111” dùng để chỉ kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, có trình tự axit amin CDRH1 theo SEQ ID NO: 201, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH1 theo SEQ ID NO: 208, trình tự axit amin CDRH2 theo SEQ ID NO: 202, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH2 theo SEQ ID NO: 209, trình tự axit amin CDRH3 theo SEQ ID NO: 203, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRH3 theo SEQ ID NO: 210, trình tự axit amin CDRL1 theo SEQ ID NO: 204, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL1 theo SEQ ID NO: 211, trình tự axit amin CDRL2 theo SEQ ID NO: 205 hoặc 206, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL2 theo SEQ ID NO: 112 hoặc 213, và trình tự axit amin CDRL3 theo SEQ ID NO: 207, được mã hóa bởi trình tự nucleotit CDRL3 theo SEQ ID NO: 214. Vùng

biến đổi chuỗi nặng (V_H) của “gRVC111” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 215, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 217, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của “gRVC111” có trình tự axit amin theo SEQ ID NO: 216, được mã hóa bởi trình tự nucleotit theo SEQ ID NO: 218.

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

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

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

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

Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các CDR của kháng thể RVC38 như được liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các CDR của kháng thể RVC44 như được liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các CDR của kháng thể RVC68 như được liệt kê trong bảng 2. Ngoài ra, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế cũng có thể chứa tất cả các CDR của kháng thể RVC111 như được liệt kê trong bảng 2.

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

Bảng 3: Số SED ID của các gốc axit nucleic và axit amin thuộc V_H và V_L của các kháng thể minh họa trong sáng chế.

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

Tốt hơn nữa, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo

sáng chế bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin mà tương đồng khoảng 70%, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự trích dẫn trong trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 15, 33, 51, 69, 70, 89, 107, 125, 143, 161, 179, 197, hoặc 215. Theo một phương án khác, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin mà tương đồng khoảng 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự trích dẫn trong trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 16, 34, 52, 71, 90, 108, 126, 144, 162, 180, 198, hoặc 216. Theo một phương án khác nữa, kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin mà tương đồng khoảng 70%, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự trích dẫn trong trình tự bất kỳ trong số các trình tự được trình bày trong các Fig từ 22 đến 33.

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

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

nêu trong SEQ ID NO: 51 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 52; hoặc (iv) vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 69 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; hoặc (v) vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 70 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 71; hoặc (vi) vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; hoặc (vii) vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 107 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108; hoặc (viii) vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 125 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126; hoặc (ix) vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144; hoặc (x) vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 161 và vùng biến

đổi chuỗi nhẹ có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 162; hoặc (xi) vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180; hoặc (xii) vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 197 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 198; hoặc (xiii) vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, ví dụ, 85%, 88%, 90%, 92%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 216.

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

chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 126; hoặc (ix) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144; hoặc (x) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 161 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 162; hoặc (xi) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180; hoặc (xii) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 197 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 198; hoặc (xiii) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 216.

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

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

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

kháng thể có khả năng trung hòa lây nhiễm lyssavirut và bao gồm CDRH3 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc SEQ ID NO: 167, cũng là kháng thể được ưu tiên hơn theo sáng chế.

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

Nhờ đó, tổ hợp của các kháng thể được đề xuất dùng trong phòng ngừa, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm gây ra bởi RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV, tốt hơn nếu là bởi RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV nhóm loài I, tốt hơn nữa

nếu là bởi RABV và/hoặc EBLV-1, với ít nhất một kháng thể phổ rộng, bao gồm kháng thể trung hòa EBLV-1.

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

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

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

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99, và kháng thể được dùng dưới dạng kết hợp còn lại gồm

trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171. Tốt hơn nữa nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 107 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108 và kháng thể còn lại được dùng dưới dạng kết hợp bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 80% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180. Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, là theo gRVC20 và trong đó kháng thể còn lại được dùng dưới dạng kết hợp là theo gRVC58.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này và kháng thể còn lại, được dùng dưới dạng kết hợp, được dùng cùng một lúc hoặc được dùng lần lượt.

Lưu ý rằng, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này và kháng thể còn lại, được dùng dưới dạng kết hợp, sẽ được dùng một cách riêng rẽ, ví dụ, trong từng được phẩm riêng biệt, hoặc được kết hợp lại với nhau, tức là dưới dạng “dung dịch hỗn hợp” kháng thể, ví dụ, trong cùng một được phẩm.

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này và kháng thể còn lại, được dùng dưới dạng kết hợp, sẽ được dùng một cách riêng rẽ. Nhờ đó, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này và kháng thể còn lại, được dùng dưới dạng kết hợp, có thể được dùng cùng lúc hoặc được dùng lần lượt. Đối với trường hợp dùng lần lượt cả hai kháng thể, khoảng thời gian từ khi dùng kháng thể thứ nhất (khi dùng xong) đến khi dùng kháng thể thứ hai (khi bắt đầu) ví dụ, trong điều trị hoặc phòng ngừa sau phơi nhiễm với lây nhiễm

lyssavirus, tốt hơn là không được quá một tuần, tốt hơn nữa nếu không quá 5 ngày, tốt hơn là không quá 3 ngày và tốt nhất là không quá 2 ngày, tốt hơn hết là không quá 1 ngày (24 giờ). Theo các phương án ưu tiên trong sáng chế, khoảng thời gian từ khi dùng kháng thể thứ nhất (khi dùng xong) đến khi dùng kháng thể thứ hai (khi bắt đầu) là không quá 12 giờ, tốt hơn là không quá 6 giờ, tốt hơn nữa là không quá 3 giờ, thậm chí là không quá 1 giờ, tốt hơn hết là không quá 30 phút, tốt nhất là không quá 10 phút. Dùng lần lượt trong đó một kháng thể được dùng ngay lập tức sau khi dùng kháng thể còn lại được ưu tiên đặc biệt (cụ thể, điều này có nghĩa là dùng một trong số các kháng thể bắt đầu sau không quá 10 phút kể từ khi dùng xong kháng thể còn lại). Trong phương thức dùng lần lượt được mô tả ở trên, được ưu tiên hơn nếu kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như đã mô tả ở trên được dùng trước và kháng thể còn lại, được dùng dưới dạng kết hợp, được dùng sau. Trong phương thức dùng lần lượt được mô tả ở trên, cũng được ưu tiên hơn nếu kháng thể còn lại, là kháng thể được dùng dưới dạng kết hợp, được dùng trước và kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này được dùng sau. Theo một phương án được ưu tiên trong sáng chế, kháng thể, cụ thể là kháng thể theo gRVC20, được cung cấp trước và kháng thể, cụ thể là kháng thể theo gRVC58, được dùng sau như đã mô tả ở trên. Theo một phương án được ưu tiên khác trong sáng chế, kháng thể, là kháng thể theo gRVC58, được dùng trước và kháng thể, là kháng thể theo gRVC20, được dùng sau như đã mô tả ở trên.

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

Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, để sử dụng theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này và kháng thể còn lại, được dùng cùng ở dạng kết hợp, được dùng tại các lượng đẳng mol.

Sáng chế còn bao gồm kháng thể hoặc mảnh của nó, mà liên kết với cùng một quyết định kháng nguyên như kháng thể hoặc mảnh liên kết với kháng nguyên theo sáng chế, hoặc kháng thể mà cạnh tranh với kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng

nguyên theo sáng chế.

Tốt hơn nữa, quyết định kháng nguyên này là vị trí kháng nguyên III.2, B, hoặc C trên protein G (glycoprotein G) RABV. Cả hai kháng thể CR57 và CR4098 đều không liên kết với các quyết định kháng nguyên này, nhưng chúng lại lần lượt liên kết với vị trí kháng nguyên I và III. Tuy nhiên, một vài kháng thể theo sáng chế, cụ thể là RVB181, RVC56, RVB185, RVC21, RVB161 và RVC111 liên kết với vị trí kháng nguyên III.2 trên protein G của RABV. Vị trí kháng nguyên III.2 mới gần với vị trí kháng nguyên III trên G protein của RABV (tham khảo ví dụ 3). Theo đó ba vị trí kháng nguyên bổ sung mới có cùng tiêu chuẩn được đặt tên là A, B và C. Vị trí B được xác định là bởi kháng thể RVC44, mà khả năng liên kết của nó không bị cản trở bởi bất kỳ kháng thể nào khác trong tập hợp các kháng thể. Tương tự, vị trí C được xác định bởi các kháng thể là RVB143 và RVC68, là những kháng thể chỉ nhận biết một epitope duy nhất và khác biệt so với tất cả các kháng thể còn lại. Lưu ý rằng, chỉ có các kháng thể RVC44, RVB143 và RVC68 trong tập hợp các kháng thể có khả năng liên kết bằng thẩm tách miễn dịch với protein G dưới các điều kiện khử, điều này đưa ra giả thuyết rằng chúng nhận biết quyết định kháng nguyên bậc một trên protein G của RABV (tham khảo ví dụ 3).

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

Các kháng thể theo sáng chế cũng bao gồm các phân tử kháng thể lai có khả năng trung hòa lây nhiễm của RABV và lây nhiễm của ít nhất 50% các lyssavirus

không phải RABV DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, ARAV, LBV, MOK, SHIV, BBLV và WCBV với giá trị IC_{50} nhỏ hơn 10000 mg/ml như đã mô tả ở trên và kháng thể lai này chứa một hoặc nhiều CDR từ kháng thể theo sáng chế và một hoặc nhiều CDR từ kháng thể khác liên kết với cùng một quyết định kháng nguyên. Theo một phương án, các kháng thể lai đã nêu bao gồm ba CDR từ kháng thể theo sáng chế và ba CDR từ kháng thể khác liên kết với cùng một quyết định kháng nguyên. Các kháng thể lai minh họa bao gồm (i) ba CDR chuỗi nặng từ kháng thể theo sáng chế và ba CDR chuỗi nhẹ từ kháng thể khác liên kết với cùng một quyết định kháng nguyên, hoặc (ii) ba CDR chuỗi nhẹ từ kháng thể theo sáng chế và ba CDR chuỗi nặng từ kháng thể khác liên kết với cùng một quyết định kháng nguyên.

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

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

Phân tử axit nucleic là phân tử bao gồm, tốt hơn nếu chỉ bao gồm các thành phần axit nucleic. Thuật ngữ phân tử axit nucleic dùng để chỉ phân tử ADN hoặc ARN. Tốt hơn nếu nó được sử dụng đồng nghĩa với thuật ngữ “polynucleotit”. Tốt hơn nếu phân tử axit nucleic là polyme bao gồm hoặc chỉ bao gồm các momone nucleotit mà liên kết cộng hóa trị với nhau bằng liên kết phosphodiester của mạch chính đường/phosphat. Thuật ngữ “phân tử axit nucleic” cũng bao gồm các phân tử axit nucleic bị đột biến, chẳng hạn như phân tử ADN hoặc ARN biến đổi gốc bazơ, biến

đổi gốc đường hoặc biến đổi mạch chính.

Bảng 4: Số SEQ ID của polynucleotit CDR trong các kháng thể minh họa theo sáng chế.

	SEQ ID của polynucleotit CDR					
	CDRH1	CDRH2	CDRH3	CDRL1	CDRL2	CDRL3
RVA122	8	9	10	11	12 hoặc 13	14
RVA144	26	27	28	29	30 hoặc 31	32
RVB185	44	45	46	47	48 hoặc 49	50
RVB492	62	63	64	65	66 hoặc 67	68
RVC3	82	83	84	85	86 hoặc 87	88
RVC20	100	101	102	103	104 hoặc 105	106
RVC21	118	119	120	121	122 hoặc 123	124
RVC38	136	137	138	139	140 hoặc 141	142
RVC44	154	155	156	157	158 hoặc 159	160
RVC58	172	173	174	175	176 hoặc 177	178
RVC68	190	191	192	193	194 hoặc 195	196
RVC111	208	209	210	211	212 hoặc 213	214

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

Cũng được ưu tiên là, các trình tự axit nucleic theo sáng chế bao gồm các trình tự axit nucleic tương đồng ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 88%, ít nhất 90%, ít nhất 92%, ít nhất 95%, ít nhất 96%, ít nhất 97%, ít nhất 98%, ít

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Các quyết định kháng nguyên mà kháng thể theo sáng chế liên kết với có mạch thẳng (liên tục) hoặc cấu dạng (không liên tục). Tốt hơn nếu, kháng thể hoặc mảnh kháng thể theo sáng chế liên kết với quyết định kháng nguyên cấu dạng, tốt hơn nữa nếu quyết định kháng nguyên cấu dạng chỉ xuất hiện ở các điều kiện không khử. Tuy nhiên, đặc biệt là với các vị trí kháng nguyên B và C như đã mô tả ở trên, các kháng thể và các mảnh kháng thể theo sáng chế cũng có thể liên kết với quyết định kháng nguyên mạch thẳng, tốt hơn nếu liên kết với quyết định kháng nguyên mạch thẳng xuất hiện ở cả hai điều kiện khử và không khử.

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

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

luciferin, và aequorin; và các ví dụ về các chất phóng xạ bao gồm ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S , hoặc ^3H . Các thuốc thử được gắn nhãn được sử dụng nhiều trong các thử nghiệm đã biết, chẳng hạn như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ, thử nghiệm miễn dịch enzym, ví dụ, ELISA, thử nghiệm miễn dịch huỳnh quang và các thử nghiệm tương tự (xem trong các bằng sáng chế Mỹ số US 3,766,162; US 3,791,932; US 3,817,837; và US 4,233,402).

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

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

Ngoài ra, kháng thể hoặc mảnh kháng thể của nó, có thể được liên hợp với kháng thể thứ hai hoặc mảnh kháng thể của nó, để tạo thành liên hợp kháng thể khác loại như đã mô tả trong bằng sáng chế Mỹ số US 4,676,980. Ngoài ra, có thể sử dụng liên kết giữa nhãn gắn và kháng thể theo sáng chế (ví dụ, bằng sáng chế Mỹ số US

4,831,175). Các kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có thể gắn trực tiếp với iot, indi, ytri phóng xạ hoặc các hạt phóng xạ khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (ví dụ, bằng sáng chế Mỹ số US 5,595,721). Điều trị bao gồm việc kết hợp điều trị với các kháng thể liên hợp hoặc kháng thể không liên hợp, dùng cùng lúc hoặc dùng lần lượt. (ví dụ, WO00/52031; WO00/52473).

Kháng thể theo sáng chế cũng có thể liên kết với chất mang rắn. Ngoài ra, kháng thể theo sáng chế, hoặc mảnh kháng thể mang chức năng của nó, được biến đổi hóa học bằng cách liên hợp cộng hóa trị với polyme, ví dụ, để tăng chu kỳ bán rã tuần hoàn của chúng. Ví dụ về các polyme, và các phương pháp để gắn chúng với chuỗi peptit, được trình bày trong các bằng sáng chế Mỹ số US 4,766,106; US 4,179,337; US 4,495,285 và US 4,609,546. Theo một vài phương án, polyme được chọn từ các polyol polyoxyetyl hóa và polyetylen glycol (PEG). PEG tan trong nước ở nhiệt độ phòng và có công thức hóa học chung là: $R(O-CH_2-CH_2)_nO-R$ trong đó R có thể là hydro, hoặc nhóm bảo vệ chẳng hạn như nhóm alkyl hoặc alkanol. Tốt hơn nếu, nhóm bảo vệ có từ 1 đến 8 nguyên tử cacbon. Ví dụ, nhóm bảo vệ là metyl. Kí hiệu n chỉ số nguyên dương. Theo một phương án, n nằm trong khoảng từ 1 đến 1.000. Theo một phương án khác, n nằm trong khoảng từ 2 đến 500. Tốt hơn nếu, PEG có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 1.000 đến 40.000, tốt hơn nữa nếu, PEG có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 2.000 đến 20.000, tốt nhất là PEG có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 3.000 đến 12.000. Ngoài ra, PEG có thể có ít nhất một nhóm hydroxyl, ví dụ PEG có thể có đuôi là nhóm hydroxyl. Ví dụ, nhóm hydroxyl ở đuôi được hoạt hóa để phản ứng với nhóm amino tự do trong chất ức chế. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng, có thể thay đổi loại và hàm lượng nhóm phản ứng để thu được PEG/kháng thể liên hợp cộng hóa trị theo sáng chế.

Polyol được polyoxyetyl hóa tan trong nước cũng rất hữu ích trong sáng chế. Chúng bao gồm, sorbitol polyoxyetyl hóa, glucosơ polyoxyetyl hóa, glyxerol polyoxyetyl hóa (POG), và các chất tương tự. Theo một phương án, POG được sử dụng. Không bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, bởi vì bộ khung glyxerol của glyxerol polyoxyetyl hóa giống với bộ khung xuất hiện tự nhiên ở, ví dụ, người và động vật trong mono-, di-, triglyxerit, không nhất thiết phải xem phân nhánh này là một tác nhân ngoại lai trong cơ thể. POG có thể có khối lượng phân tử tương tự như PEG. Một hệ phân phối thuốc khác có thể sử dụng để tăng chu kỳ bán rã tuần này là

lyposom. Các phương pháp tạo ra hệ phân phối lyposom là các kiến thức đã biết đối với những người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Các hệ phân phối thuốc khác cũng là những kiến thức đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và được mô tả trong, ví dụ Poznansky et al. (1980) và Poznansky (1984).

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

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

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

Sản xuất kháng thể

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

Sử dụng phương pháp được mô tả trong WO2004/076677, các tế bào B sản xuất kháng thể theo sáng chế được biến nạp với EBV và t chất hoạt hóa tế bào B đa dòng. Có thể tùy ý bổ sung thêm các chất kích thích sinh trưởng và biệt hóa tế bào trong suốt quá trình biến nạp để làm tăng hiệu quả biến nạp. Các chất kích thích có thể là các xytokin chẳng hạn như IL 2 và IL-15. Theo một khía cạnh, IL-2 được thêm vào

trong suốt quá trình làm bất tử để làm tăng hiệu quả gây bất tử, tuy nhiên, việc sử dụng chất này là không cần thiết. Sau khi tạo ra các tế bào B bất tử, có thể nuôi cấy các tế bào này sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và tiến hành phân lập kháng thể từ các tế bào này.

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

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

Có thể thu được các mảnh kháng thể theo sáng chế từ kháng thể bằng các phương pháp bao gồm tiêu hóa bằng enzym, chẳng hạn enzym pepsin hoặc papain, và/hoặc bằng cách cắt đứt liên kết disulfit bằng phản ứng khử hóa học. Ngoài ra, có thể thu được các mảnh kháng thể bằng cách tách dòng và biểu hiện một phần trình tự của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. “Các mảnh” kháng thể bao gồm Fab, Fab', F(ab')₂ và các mảnh Fv. Sáng chế cũng bao gồm các mảnh Fv đơn chuỗi (scFv) có nguồn gốc từ chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể theo sáng chế. Ví dụ, kháng thể bao gồm scFV chứa các CDR từ kháng thể theo sáng chế. Sáng chế cũng bao gồm các monome và dime chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, các kháng thể chuỗi nặng đơn miền, kháng thể chuỗi nhẹ đơn miền, cũng như các kháng thể đơn chuỗi, ví dụ, Fv đơn chuỗi Fv trong đó

vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ liên kết với nhau bằng liên kết peptit.

Các mảnh kháng thể theo sáng chế có thể truyền các tương tác đơn trị hoặc đa trị và có thể có nhiều cấu trúc khác nhau như được mô tả ở trên. Ví dụ, các phân tử scFv được tổng hợp để tạo thành các “triabody” hóa trị ba hoặc tạo thành “tetrabody” hóa trị bốn. Các phân tử scFv có cấu tạo gồm miền vùng Fc tạo ra minibody hóa trị hai. Ngoài ra, các trình tự theo sáng chế có thể là thành phần của phân tử đa đặc hiệu trong đó các trình tự theo sáng chế hướng tới các quyết định kháng nguyên trong sáng chế và các vùng khác của phân tử liên kết với các đích khác. Các phân tử minh họa bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Fab2 đặc hiệu kép, Fab3 đặc hiệu ba, và scFv đặc hiệu kép và diabody (Holliger và Hudson, 2005, Nature Biotechnology 9: 1126-1136).

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

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

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

Phân tử kháng thể có thể chỉ chứa một polypeptit chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, trong trường hợp này chỉ chứa polypeptit chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ mã hóa cho trình tự cần sử dụng để biến nạp vào tế bào chủ. Để sản xuất các sản phẩm có chứa cả chuỗi

nhẹ và chuỗi nặng, dòng tế bào phải được biến nạp với hai vector, vector thứ nhất mã hóa cho polypeptit chuỗi nhẹ và vector thứ hai mã hóa cho polypeptit chuỗi nặng. Ngoài ra, cũng có thể sử dụng một vector, vector này chứa các trình tự mã hóa cho polypeptit chuỗi nhẹ và polypeptit chuỗi nặng.

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

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

Sau đó, các dòng tế bào B đã biến nạp được tạo ra từ dịch nuôi cấy tế bào B biến nạp dương tính. Tiến hành bước tách dòng để tách các dòng riêng rẽ từ hỗn hợp các tế bào dương tính sử dụng pha loãng giới hạn, thao tác vi thể, kết tủa tế bào đơn bằng cách phân loại tế bào và phương pháp khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

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

Các dòng tế bào B bất tử hoặc các tế bào chủ đã chuyển nạp theo sáng chế được sử dụng theo nhiều cách khác nhau ví dụ, được sử dụng làm nguồn kháng thể đơn

dòng, làm nguồn axit nucleic (DNA hoặc mARN) mã hóa cho kháng thể đơn dòng quan tâm, hoặc để nghiên cứu, v.v..

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

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

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

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

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

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

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

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

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp để tạo ra một hoặc nhiều phân tử axit nucleic (ví dụ, các gen chuỗi nặng và chuỗi nhẹ) mã hóa cho kháng thể quan tâm, bao gồm các bước: (i) tạo ra dòng tế bào B bất tử hoặc nuôi cấy các tế bào huyết tương theo sáng chế; (ii) thu lấy axit nucleic mã hóa cho kháng thể quan tâm từ dòng tế bào B bất tử hoặc tế bào huyết tương nuôi cấy. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phương pháp thu trình tự axit nucleic mã hóa cho kháng thể quan tâm, bao gồm các bước: (i) tạo ra dòng tế bào B bất tử và nuôi cấy tế bào huyết tương theo sáng chế; (ii) giải trình tự axit nucleic mã hóa cho kháng thể quan tâm từ dòng tế bào B bất tử hoặc tế bào huyết tương nuôi cấy.

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

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

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp sản xuất kháng thể, phương pháp này bao gồm các bước: nuôi cấy hoặc nuôi cấy cấp hai quần thể tế bào chủ đã chuyển nạp trong các điều kiện sao cho kháng thể quan tâm được biểu hiện và, tùy ý, tinh sạch kháng thể qua tâm, trong đó quần thể tế bào chủ đã nêu được tạo ra bằng cách (i) tạo ra (các) axit nucleic mã hóa cho kháng thể quan tâm được lựa chọn là các kháng thể được sản xuất bởi dòng tế bào B bất tử và tế bào huyết tương nuôi cấy sản xuất như đã mô tả ở trên, (ii) chèn (các) axit nucleic vào trong vector biểu hiện, (iii) chuyển nạp vector vào trong tế bào chủ có khả năng biểu hiện kháng thể quan tâm, và (iv) nuôi cấy hoặc nuôi cấy cấp hai các tế bào chủ đã chuyển nạp có chứa axit nucleic được chèn vào để sản xuất kháng thể quan tâm. Do đó, bước đầu tiên trong quy trình là tạo ra tế bào chủ tái tổ hợp và sau đó có thể tiến hành nuôi cấy chúng để biểu hiện kháng thể tại các thời điểm khác nhau bởi những người khác nhau ở những nơi khác nhau (ví dụ, ở các nước khác nhau).

Quyết định kháng nguyên

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

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

Cụ thể là, trước đó hai kháng thể tham chiếu là CR57 và CR4098 đã lần lượt nhận biết các vị trí kháng nguyên I và III trên protein G của RABV (Bakker, A. B. H. et al., J Virol 79, 9062–9068, 2005). Các kháng thể minh họa theo sáng chế được chia thành 6 nhóm. RVA125, RVC3, RVC20 và RVD74 là nhóm liên kết với vị trí kháng nguyên I. Lưu ý rằng, khả năng liên kết của kháng thể vị trí kháng nguyên I với protein G tăng lên nhờ phân nhóm các kháng thể không liên kết với vị trí kháng nguyên I. RVA122, RVA144, RVB492, RVC4, RVC69, RVC38 và RVC58 là nhóm liên kết với vị trí kháng nguyên III, trong đó, quyết định kháng nguyên RVC58 có thể chỉ chồng một phần lên vị trí kháng nguyên III. Nhóm thứ ba gồm các kháng thể RVB181, RVC56, RVB185, RVC21, RVB161 và RVC111 liên kết với vị trí kháng nguyên III.2, gần giống với vị trí kháng nguyên III trên protein G. Ba vị trí kháng nguyên bổ sung được xác định có tên là A, B và C. Vị trí A được xác định bởi duy nhất kháng thể RVB686, vì vậy, liên kết của RVB686 có thể tác động biến cấu trên protein G, làm thay đổi khả năng liên kết của hầu hết các kháng thể khác. Vị trí B được xác định bởi kháng thể RVC44. Tương tự, vị trí C được xác định bởi các kháng thể RVB143 và RVC68, các kháng thể này cũng nhận biết một quyết định kháng nguyên duy nhất và khác biệt so với tất cả các kháng thể khác. Lưu ý rằng, RVC44, RVB143 và RVC68 chỉ là các kháng thể trong tập hợp kháng thể có khả năng liên kết với protein G trong điều kiện khử, vì vậy đưa ra giả thuyết rằng chúng nhận biết quyết

định kháng nguyên mạch thẳng trên protein G của RABV.

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

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

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

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

Dược phẩm

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

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

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

Các chất mang dược dụng trong hợp chất trị liệu có thể chứa thêm các chất lỏng chẳng hạn như nước, nước muối, glyxerol và etanol. Ngoài ra, các chất hỗ trợ, chẳng hạn tác nhân làm ướt hoặc tác nhân nhũ hóa hoặc đệm pH cũng có thể có mặt trong hợp chất đã nêu. Các chất mang đã nêu có thể kết hợp vào dược phẩm dưới dạng như viên nén, viên tròn, viên bao đường, viên nang, chất lỏng, gel, sirô, viên dẻo hoặc huyền phù để cho đối tượng sử dụng uống.

Dược phẩm theo sáng chế được bào chế dưới nhiều dạng. Ví dụ, dược phẩm có thể được bào chế thành dạng có thể tiêm, hoặc dạng dung dịch lỏng hoặc huyền phù. Các dạng rắn phù hợp với dung dịch, hoặc huyền phù, chất lỏng dẫn thuốc trước khi tiêm có thể được bào chế (ví dụ, chế phẩm làm khô lạnh, như Synagis™ và Herceptin™, để hoàn nguyên với nước cất có chứa chất bảo quản). Dược phẩm để

dùng tại chỗ, ví dụ, thuốc mỡ, kem hoặc bột cũng được bào chế. Có thể bào chế được phẩm dùng theo đường miệng, ví dụ, viên nén hoặc viên nang, thuốc dạng xịt hoặc như một siro (hương vị tùy ý). Dược phẩm cũng có thể được bào chế để dùng theo đường hô hấp ví dụ, dược phẩm để xông, sử dụng bột mịn hoặc bụi nước. Dược phẩm cũng được bào chế dưới dạng thuốc đạn hoặc thuốc đặt âm đạo. Dược phẩm cũng được bào chế để dùng theo đường mũi, tai hoặc mắt, ví dụ, thuốc nhỏ. Dược phẩm cũng có thể ở dạng bột dược phẩm, được thiết kế sao cho dược phẩm kết hợp được hoàn nguyên trước khi cung cấp cho đối tượng cần điều trị. Ví dụ, kháng thể đông khô lạnh được cung cấp trong dạng kit với nước cất hoặc đệm vô trùng.

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

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

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

Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là dược phẩm được cung cấp dưới một vài dạng; các dạng dược phẩm bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, các dạng phù hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, để tiêm hoặc truyền, ví dụ, để tiêm nhanh một liều thuốc hoặc truyền liên tục. Trường hợp sản phẩm dùng để tiêm hoặc truyền, thuốc có thể ở dạng huyền phù, dung dịch hoặc nhũ tương trong chất dẫn thuốc trong nước hoặc dầu và có thể chứa các tác nhân, chẳng hạn như, chất tạo huyền phù, chất bảo quản, chất ổn định và/hoặc chất phân tán. Ngoài ra, phân tử kháng thể có thể ở dạng khô, để hoàn nguyên trước khi sử dụng với chất lỏng vô trùng thích hợp. Chất dẫn

thuốc thường được hiểu là vật liệu phù hợp với việc bảo quản, vận chuyển và/hoặc cung cấp hợp chất, chẳng hạn như dược chất hoạt hóa. Ví dụ, chất dẫn thuốc có thể là chất lỏng có thể chấp nhận về mặt sinh lý, thích hợp để bảo quản, vận chuyển và/hoặc cung cấp dược chất hoạt hóa, cụ thể là kháng thể theo sáng chế. Sau khi được bào chế, dược phẩm theo sáng chế được dùng trực tiếp cho đối tượng cần điều trị. Theo một phương án, dược phẩm được biến đổi để dùng cho động vật có vú, ví dụ con người.

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

Thông thường, việc phân phối dược phẩm trực tiếp vào trong cơ thể được thực hiện bằng cách tiêm dưới da, trong màng bụng, tiêm tĩnh mạch hoặc trong cơ, hoặc đưa trực tiếp vào kẽ của mô, do đó tiêm tĩnh mạch hoặc tiêm bắp được ưu tiên hơn và tiêm bắp được ưu tiên nhất. Dược phẩm cũng có thể được cung cấp vào thẳng vết thương. Đặc biệt ưu tiên nếu dược phẩm theo sáng chế được cung cấp giống như các globulin miễn dịch bệnh dại (rabies immunoglobulins - RIGs) đã biết trong phòng ngừa sau phơi nhiễm. Ví dụ, tổ chức y tế thế giới WHO khuyến cáo sử dụng tất cả các RIG, hoặc phẫu thuật nhiều nhất có thể để tránh hội chứng chèn ép khoang có thể xảy ra, bên trong hoặc xung quanh vị trí hoặc các vị trí vết thương (ví dụ, vị trí vết cắn). Globulin miễn dịch còn lại, nếu có, nên được tiêm bắp tại vị trí cách xa vị trí chủng ngừa vaccin (tham khảo trên trang web http://www.who.int/rabies/human/WHO_strategy_prepost_exposure/en/index1.html#, lấy vào ngày 12 tháng 11 năm 2014). Theo đó, phương pháp cung cấp này cũng được đặc biệt ưu tiên đối với kháng thể và dược phẩm theo sáng chế, ít nhất là trong phòng ngừa sau phơi nhiễm và cũng có thể là trong điều trị hoặc trong các ứng dụng khác.

Liều lượng điều trị có thể là phác đồ điều trị liều đơn hoặc liều đa. Dược phẩm chứa kháng thể đã biết cung cấp hướng dẫn liên quan đến tần suất dùng thuốc, ví dụ,

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

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

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

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

Được phẩm sẽ bao gồm lượng hiệu quả điều trị của một hoặc nhiều kháng thể theo sáng chế và/hoặc chuỗi polypeptit có chứa quyết định kháng nguyên liên kết với

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

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

Tức là, hai kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với protein G của RABV, nhưng lại liên kết với các quyết định kháng nguyên khác nhau trên protein G của RABV. Ví dụ, một kháng thể có thể liên kết đặc hiệu với vị trí kháng nguyên I trên protein G của RABV và một kháng thể khác liên kết đặc hiệu với quyết định kháng nguyên trên glycoprotein G của RABV, cái chông ít nhất một phần lên vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV. Các vị trí kháng nguyên của các kháng thể minh họa được chỉ ra trong ví dụ 3. Hơn nữa, liệu hai kháng thể liên kết với cùng một quyết định kháng nguyên hay liên kết với các quyết định kháng nguyên khác nhau trên protein G của RABV được xác định một cách dễ dàng bởi những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ bằng cách sử dụng thử nghiệm cạnh tranh bất kỳ, theo đó, một ví dụ nghiên cứu về sự cạnh tranh được trình bày trong ví dụ 3.

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

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

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

Dược phẩm theo sáng chế được ưu tiên hơn nữa nếu bao gồm ít nhất hai kháng thể theo sáng chế như đã mô tả ở trên, trong đó một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95 và trong đó một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 167. Tốt hơn nữa nếu, một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99

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

Ví dụ cụ thể về hai kháng thể theo sáng chế, là hai kháng thể liên kết đặc hiệu với các quyết định kháng nguyên khác nhau trên glycoprotein G của RABV, là kháng thể RVC20 và RVC58.

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

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

Việc kết hợp hai kháng thể theo sáng chế, là các kháng thể liên kết với các quyết định kháng nguyên khác nhau trên protein G của RABV đại diện cho việc điều trị với một độ rộng phản ứng chưa từng có và làm giảm nguy cơ thoát của đột biến chọn lọc. Cụ thể là, việc kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể đơn dòng theo sáng chế, nhờ đó các kháng thể liên kết với các quyết định kháng nguyên khác nhau hoặc các vị trí khác nhau trên protein G của RABV làm tăng hiệu quả bảo vệ và ngăn sự thoát của các biến thể kháng của virus.

Tốt hơn nữa, dược phẩm có thể chứa hai hoặc nhiều (ví dụ, 2, 3, 4, 5 v.v.) kháng thể theo sáng chế để tạo ra hiệu quả điều trị hiệp đồng hoặc cộng gộp. Thuật ngữ “hiệp đồng” được sử dụng để mô tả hiệu quả kết hợp hai hoặc nhiều tác nhân hoạt hóa, lớn hơn so với tổng hiệu quả của từng tác nhân riêng rẽ. Do đó, khi hiệu quả kết hợp của hai hoặc nhiều tác nhân dẫn đến “hiệp đồng ức chế” của một hoạt động hoặc quá trình, được dự định là sẽ ức chế hoạt động hoặc quá trình lớn hơn so với tổng hiệu quả ức chế của từng tác nhân riêng rẽ. Thuật ngữ “hiệu quả hiệp đồng điều trị” đề cập

tới hiệu quả điều trị quan sát được khi kết hợp hai hoặc nhiều liệu pháp điều trị trong đó hiệu quả điều trị (được đo bằng số lượng tham số bất kỳ) lớn hơn số với tổng của các hiệu quả trị liệu riêng rẽ quan sát được ứng với các liệu pháp trị liệu riêng rẽ.

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

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

Theo một phương án được đặc biệt ưu tiên, dược phẩm theo sáng chế được cung cấp kết hợp với vaccin bệnh dại (tạo miễn dịch chủ động), đặc biệt là trong phòng ngừa sau phơi nhiễm. Các vaccin bệnh dại có mặt trên thị trường hiện nay bao gồm các vaccin sản xuất từ mô thần kinh được sử dụng rộng rãi nhưng có nguy cơ bị hỏng cao, hoặc vaccin được sản xuất từ nuôi cấy tế bào và trứng phôi (CCEEV) an toàn hơn nhưng có giá thành cao hơn. Ở Đức, ví dụ, chỉ có hai vaccin ngừa bệnh dại được bán trên thị trường là Rabipur® và “Tollwut-Impfstoff (tế bào lưỡng bội người - human diploid cell [HDC]) inaktiviert”. Các vaccin này chứa virut dại đã bất hoạt. Cả hai loại vaccin đều được khuyến cáo sử dụng trước và sau phơi nhiễm. Một ví dụ khác về vaccin bệnh dại là Imovax (Sanofi-Pasteur), là một vaccin được sản xuất từ tế bào lưỡng bội người bán trên thị trường. Vaccin bệnh dại thường được dùng theo hướng dẫn của nhà sản xuất, theo đó, quy trình phòng ngừa sau phơi nhiễm bao gồm cung cấp vaccin vào các ngày 0, 3, 7, 14 và 28 sau khi lây nhiễm. Tốt hơn nếu, dược phẩm theo sáng chế (tạo miễn dịch thụ động) chỉ được cung cấp một lần duy nhất, tốt hơn nếu dược phẩm được cung cấp cùng một lúc với vaccin hoặc sớm nhất có thể sau khi chủng ngừa vaccin.

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

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

Ngoài ra, dược phẩm chứa kháng thể gRVA122 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVA144 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVB185 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVB492 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC20 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC21 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC38 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC44 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC58 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC68 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên. Dược phẩm chứa kháng thể gRVC111 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, và chất mang được dụng cũng được ưu tiên.

Ngoài ra, dược phẩm chứa kháng thể RVA122 hoặc mảnh liên kết kháng

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

Các kháng thể cũng được cung cấp cho những đối tượng trước đây không có phản ứng, tức là, từng cho thấy khúc xạ với điều trị lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV. Trị liệu như vậy bao gồm điều trị trước với tác nhân kháng virus. Điều này có thể do, ví dụ, lây nhiễm với chủng kháng kháng virus của RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV.

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

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

Theo một phương án khác, phương pháp bào chế dược phẩm bao gồm các bước: trộn kháng thể với một hoặc nhiều chất mang được dụng, trong đó kháng thể là

kháng thể đơn dòng thu được từ tế bào B hoặc tế bào huyết tương nuôi cấy đã biến nạp theo sáng chế. Do đó, bước đầu tiên của quy trình bào chế là tạo ra kháng thể đơn dòng và sau đó tiến hành điều chế vào các thời điểm khác nhau bởi những người khác nhau tại các nơi khác nhau (ví dụ, tại các nước khác nhau).

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

Chế phẩm theo sáng chế có thể là chế phẩm sinh miễn dịch, và trong một vài phương án có thể là chế phẩm vaccin chứa kháng nguyên có quyết định kháng nguyên được nhận biết bởi kháng thể theo sáng chế hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, đặc biệt là được phẩm trong sáng chế, có chứa chuỗi polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế. Chế phẩm “vaccin” đã nêu theo sáng chế có thể là vaccin phòng bệnh (tức là, ngăn ngừa lây nhiễm) hoặc có thể là vaccin chữa bệnh (tức là điều trị hoặc cải thiện tình trạng lây nhiễm). Chế phẩm vaccin đã nêu theo sáng chế có thể tạo ra cả đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào cũng như đáp ứng miễn dịch thể dịch để có thể đáp ứng một cách hiệu quả với lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV. Đáp ứng miễn dịch này có thể tạo ra các kháng thể bền lâu (ví dụ, trung hòa) và đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào có thể nhanh chóng đáp ứng khi phơi nhiễm với RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV.

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

Ngoài ra, các chế phẩm có thể chứa đường alcohol (ví dụ, mannitol) hoặc disaccharit (ví dụ, sucrozơ hoặc trehalozơ) ví dụ, với lượng khoảng 15-30 mg/ml (ví dụ, 25 mg/ml), đặc biệt nếu chúng được làm khô bằng đông lạnh hoặc nếu chúng có chứa các vật liệu được hoàn nguyên từ vật liệu đông khô bằng đông lạnh. Độ pH của

chế phẩm được làm khô bằng đông lạnh được điều chỉnh sao cho nằm trong khoảng từ 5 đến 8, hoặc nằm trong khoảng từ 5,5 đến 7, hoặc khoảng 6,1 trước khi làm khô bằng đông lạnh.

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

Kit nhiều thành phần

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kit nhiều thành phần bao gồm ít nhất một kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, ít nhất một axit nucleic theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, ít nhất một vector theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, ít nhất một tế bào theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, ít nhất một chuỗi polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, và/hoặc ít nhất một dược phẩm theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này.

Tốt hơn nếu, kit nhiều thành phần đã nêu gồm ít nhất hai kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, trong đó, các kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với các quyết định kháng nguyên khác nhau trên glycoprotein G của RABV. Kit nhiều thành phần đã nêu đặc biệt hữu ích trong việc kết hợp hai kháng thể theo sáng chế đã được mô tả ở đây. Ít nhất hai kháng thể có thể có mặt trong kit nhiều thành phần như là các thành phần riêng rẽ hoặc kết hợp, ví dụ, ở dạng hỗn hợp, ví dụ khi cả hai kháng thể cùng nằm trong một dược phẩm. Tốt hơn nếu ít nhất hai kháng thể là các thực thể riêng biệt trong kit nhiều thành phần, người sử dụng có trộn chúng lại với nhau nếu cần. Tốt hơn nữa nếu, ít nhất hai kháng thể khác nhau được kết hợp lại, ví dụ, thành hỗn hợp, ví dụ, khi cả hai kháng thể đều nằm trong cùng một dược phẩm.

Tốt hơn nếu, trong kit nhiều thành phần đã nêu, một trong số ít nhất hai kháng thể liên kết với vị trí kháng nguyên I trên glycoprotein G của RABV và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể liên kết với vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV.

Cũng được ưu tiên hơn nếu kit nhiều thành phần đã nêu chứa ít nhất một trong

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

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

171. Thậm chí tốt hơn nữa nếu, kit nhiều thành phần đã nêu có ít nhất một kháng thể trong số hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo gRVC20 và trong đó kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể theo gRVC58.

Điều trị và cách sử dụng trong y tế

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

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

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

Ngoài ra, việc kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể đã nêu được ưu tiên hơn trong đó, ít nhất hai kháng thể, tốt hơn nếu nhiều hơn hai kháng thể, và tốt nhất là tất cả các kháng thể được kết hợp, đều liên kết với các quyết định kháng nguyên khác nhau trên protein G của RABV như đã mô tả ở trên. Ví dụ, kháng thể kết hợp thứ nhất có thể liên kết đặc hiệu với vị trí kháng nguyên I trên protein G của RABV và kháng thể thứ hai có thể liên kết đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên trên glycoprotein G của RABV, cái mà chồng một phần lên vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV. Các vị trí kháng nguyên của kháng thể minh họa trong sáng chế được trình bày sơ qua trong ví dụ 3. Hơn nữa, hai hoặc nhiều kháng thể liên kết với cùng một quyết định kháng nguyên hay liên kết với các quyết định kháng nguyên khác nhau trên glycoprotein G của RABV được xác định dễ dàng bằng cách sử dụng các nghiên cứu về sự cạnh tranh, theo đó, ví dụ về nghiên cứu sự cạnh tranh đã được trình bày trong ví dụ 3. Các ví dụ được ưu tiên đặc biệt về việc kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể theo sáng chế là việc kết hợp hai kháng thể theo gRVC20 và gRVC58, được ưu tiên hơn là việc kết hợp hai kháng thể RVC20 và RVC58. Ngoài ra, các ví dụ về việc kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể theo sáng chế bao gồm việc kết hợp hai hoặc nhiều gRVA122, gRVA144, gRVB185, gRVB492, gRVC3, gRVC20, gRVC21, gRVC38, gRVC44, gRVC58, gRVC68, và gRVC111, được ưu tiên hơn nữa là việc kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể RVA122, RVA144, RVB185, RVB492, RVC3, RVC20, RVC21, RVC38, RVC44, RVC58, RVC68, và RVC111.

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

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

cung cấp.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cũng được ưu tiên hơn là kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế, phân tử axit nucleic theo sáng chế, vector theo sáng chế, tế bào theo sáng chế, polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế, hoặc được phẩm theo sáng chế được sử dụng trong phòng ngừa sau phơi nhiễm, điều trị hoặc làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV, trong đó, kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, axit nucleic, vector, tế bào hoặc được phẩm được cung cấp kết hợp với

một vaccin, tốt hơn nếu vaccin đó là vaccin bệnh dại, một loại thuốc kháng virus, tốt hơn nếu thuốc đó là ribavirin, interferon-alpha và/hoặc ketamin.

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

Thuốc kháng virus dùng để chỉ loại thuốc được sử dụng để điều trị đặc hiệu lây nhiễm virus. Tương tự như thuốc kháng sinh dùng cho vi khuẩn, thuốc kháng virus nhất định được sử dụng cho các virus nhất định. Không giống như hầu hết các thuốc kháng sinh, các thuốc kháng virus không tiêu diệt tác nhân gây bệnh đích của chúng; thay vào đó chúng ức chế sự phát triển của tác nhân gây bệnh. Thuốc kháng virus là ribavirin được ưu tiên đặc biệt.

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

Thuật ngữ “phác đồ phòng ngừa sau phơi nhiễm tiêu chuẩn” thường đề cập đến phác đồ phòng ngừa sau phơi nhiễm được WHO khuyến dùng (tham khảo trên trang

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

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

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

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

Ngoài việc được dùng dưới dạng kết hợp với vaccin, ví dụ, trong phác đồ phòng ngừa sau phơi nhiễm tiêu chuẩn, các kháng thể theo sáng chế cũng có hiệu quả

ngay cả khi nó không được cung cấp cùng với vaccin, ví dụ như trong điều trị bệnh dại ví dụ, nếu nó được cung cấp sau nhiều hơn một hoặc hai ngày phơi nhiễm.

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

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng bao gồm cho đối tượng cần điều trị dùng kháng thể, mảnh kháng thể, hoặc biến thể và dẫn xuất của chúng theo sáng chế, hoặc phối tử, tốt hơn nếu là kháng thể, có khả năng liên kết với quyết định kháng nguyên mà quyết định kháng nguyên này lại liên kết với kháng thể theo sáng chế. Theo một phương án, phương pháp làm giảm lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirus không phải RABV ở đối tượng cần điều trị. Theo một phương án khác, phương pháp giúp ngăn ngừa, làm giảm nguy cơ hoặc làm chậm lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirus không phải RABV ở đối tượng.

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

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp chẩn đoán lây nhiễm RABV và/hoặc

lyssavirut không phải RABV ở đối tượng, trong đó phương pháp bao gồm cung cấp cho đối tượng cần điều trị kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, phân tử axit nucleic theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, vector theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, tế bào theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, polypeptit sinh miễn dịch theo sáng chế, và/hoặc được phẩm theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này.

Tốt hơn nếu, trong các phương pháp theo sáng chế được mô tả ở trên, có ít nhất hai kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này được cung cấp cho đối tượng, mà các kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với các quyết định kháng nguyên khác nhau trên glycoprotein G của RABV. Tốt hơn nếu, một trong số ít nhất hai kháng thể liên kết với vị trí kháng nguyên I trên glycoprotein G của RABV và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể liên kết với vị trí kháng nguyên III trên glycoprotein G của RABV. Tốt hơn nếu, ít nhất một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 167. Tốt hơn nữa nếu, ít nhất một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa (i) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ lần lượt tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99 hoặc (ii) trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% lần lượt với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171. Thậm chí tốt hơn nữa nếu, ít nhất một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chứa CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 95 và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể CDRH3 chuỗi nặng có trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 167. Đặc biệt tốt hơn nếu một trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó

bao gồm trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% lần lượt với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 93-97 và 99 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93-96 và 98-99 và một kháng thể khác trong số ít nhất hai kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ tương đồng ít nhất 80%, tốt hơn nếu ít nhất 90% lần lượt với trình tự nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171 hoặc với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171.

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

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

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

Các kháng thể và các mảnh của nó như được mô tả trong sáng chế cũng có thể

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

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

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

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

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

nêu.

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

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

Ví dụ thực hiện sáng chế

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

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

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

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

Các tế bào B ghi nhớ IgG+ được phân lập từ các tế bào máu ngoại vi PBMC được bảo quản lạnh của bốn vacxin được chọn sử dụng các microbead (hạt làm sạch) CD22 (Miltenyi Biotec), sau đó làm tiêu dịch của các tế bào mang IgM, IgD và IgA bằng phương pháp phân loại tế bào. Các tế bào B ghi nhớ từ bốn vacxin được chọn sau đó được làm bất tử với EBV (Epstein Barr Virus) và CpG (CpG oligodeoxynucleotit 2006) trong các giếng nhân bản như đã mô tả trước đó (Traggiai, E. et al., Nat. Med. 10, 871–875, 2004) và sau đó dịch nổi nuôi cấy được kiểm tra bằng sàng lọc sơ cấp sử dụng thử nghiệm trung hòa dạng giả CSV-11 RABV trên đĩa 384 giếng (chủng tham chiếu CVS-11, chủng vacxin). Các tế bào thận phôi người 293T được sử dụng để sản xuất lentivirut kiểu giả (thay thế lyssavirut). Các thử nghiệm trung hòa được tiến hành trên các tế bào thận chuột đồng sơ sinh 21 dòng 13 (HBK). Trong đĩa 384 giếng, virut kiểu giả CVS-11 thu được từ $50-100 \times 10^4$ đơn vị ánh sáng tương đối (relative light units - RLU) được ủ với huyết thanh pha loãng hai lần trong một giờ tại 37% (5%

CO₂) trước khi bổ sung thêm 3'000 tế bào BHK-21. Lại tiếp tục ủ chúng trong 48 giờ nữa sau khi loại bỏ dịch nổi và bổ sung thêm 15 µl thuốc thử Steadylite (Perkin Elmer). Hoạt tính của enzym Luciferaza được phát hiện sau 5 phút bằng cách đọc trên đĩa Synergy microplate luminometer (BioTek) (Wright, E. et al., J Gen. Virol 89, 2204–2213, 2008). Thu lấy các chủng nuôi cấy dương tính và nhân lên. Từ các chủng nuôi cấy dương tính, các trình tự VH và VL được khôi phục bằng RT-PCR. Các kháng thể RVC20 và RVC58 được tách dòng vào trong vector biểu hiện lambda Ig hoặc kappa IG và IgG1 người (được Michel Nussenzweig, Rockefeller University, New York, US cung cấp) về cơ bản đã mô tả (Tiller T, Meffre E, Yurasov S, Tsuiji M, Nussenzweig MC, Wardemann H (2008) Efficient generation of monoclonal antibodies from single human B cells by single cell RT-PCR and expression vector cloning. J Immunol Methods 329: 112-124). Các kháng thể đơn dòng được sản xuất từ các tế bào B bất tử EBV hoặc bởi chuyển nạp tạm thời của các tế bào Freestyle 293 (Invitrogen). Thu lấy dịch nổi từ các tế bào B hoặc tế bào chuyển nạp thu được và IgG được tinh sạch ái lực bằng phương pháp sắc ký protein A hoặc protein B (GE Healthcare) và khử muối chống PBS.

Năm trăm kháng thể đơn dòng người được phân lập khả năng trung hòa RABV của chúng. Hai mươi một kháng thể đơn dòng người được chọn có hiệu quả trung hòa cao chồng lại CVS-11 RABV, với giá trị IC₉₀ (là nồng độ kháng thể đủ để trung hòa 90% lây nhiễm virus) nằm trong khoảng từ 0,01 đến 317 ng/ml (Fig. 3), được sản xuất bởi các tế bào B bất tử EBV và được tinh sạch ái lực bằng phương pháp sắc ký Protein A hoặc Protein G (trong trường hợp của IgG3). HRIG và hai kháng thể đơn dòng người tham chiếu (CR57 và CR4098) đã được phát triển nghiên cứu đến giai đoạn III để thay thế các RIG (nhưng hiện tại bị thất bại do thiếu hoạt tính trung hòa kháng lại một số chủng RABV hiện có) cũng được thử nghiệm. Ngoài ra, tất cả các kháng thể đều cho thấy khả năng liên kết với protein G của RABV bằng ELISA (CVS-11). Để đạt được điều này, phải sử dụng thử nghiệm ELISA tiêu chuẩn. Tóm lại, các đĩa ELISA được phủ với 5 µg/ml protein G của RABV, bị chặn bởi 10% FCS trong PBS, được ủ với huyết thanh hoặc kháng thể người và được rửa sạch. Các kháng thể liên kết được phát hiện bằng cách ủ với IgG dê kháng người liên hợp AP (Southern Biotech). Sau đó rửa các đĩa, bổ sung thêm cơ chất (p-NPP, Sigma) và đem đọc tại bước sóng 405 nm. Ái lực tương đối của huyết thanh liên kết với kháng thể đơn dòng liên kết

được xác định bằng cách đo độ pha loãng của huyết thanh (ED50) hoặc nồng độ của kháng thể cần để thu được lớn nhất là 50% liên kết tại thời điểm bão hòa (EC50).

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

Ví dụ 3: Nghiên cứu cạnh tranh kháng thể: nhận biết các vị trí kháng nguyên trên protein G RABV.

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

Các kháng thể RVA125, RVC3, RVC20 và RVD74 được xếp vào nhóm vị trí kháng nguyên I theo sự cạnh tranh với CR57 và sự cạnh tranh lẫn nhau của chúng. Lưu ý rằng, khả năng liên kết của các kháng thể vị trí kháng nguyên I trên protein G được tăng lên bởi phân nhóm các kháng thể không phải là kháng thể vị trí kháng nguyên I. RVA122, RVA144, RVB492, RVC4, RVC69, RVC38 và RVC58 được xếp vào nhóm vị trí kháng nguyên III theo sự cạnh tranh với CR4098 và theo sự cạnh tranh lẫn nhau của chúng. RVC58 chỉ cạnh tranh một phần với CR4098 (tức là 64%) cũng như cạnh tranh một phần với các kháng thể không phải vị trí I và III, do đó, đặt ra giả thuyết rằng, quyết định kháng nguyên RVC58 có thể chỉ chồng một phần lên vị trí kháng nguyên III. Nhóm thứ ba gồm các kháng thể RVB181, RVC56, RVB185, RVC21, RVB161 và RVC111 được đặt tên là III.2 do khả năng liên kết của tất cả các kháng thể được gắn nhãn biotin này bị cản trở bởi tất cả các kháng thể vị trí kháng nguyên III tuy nhiên, ngược lại tất cả các kháng thể này không có khả năng cản trở sự liên kết của một vài kháng thể vị trí kháng nguyên III như CR4098, RVC4 và RVC69. Khi đọc kết quả cạnh tranh, cần lưu ý rằng khi hai quyết định kháng nguyên chồng lên nhau, hoặc các vùng bị che phủ bởi các cánh của hai kháng thể chồng lên nhau, sự cạnh tranh hầu hết là cạnh tranh hoàn toàn. Hiệu quả ức chế hoặc tăng cường yếu dẫn tới giảm ái lực do tác động lập thể hoặc dị lập thể. Vì lý do này, ở đây chúng ta định nghĩa về vị trí kháng nguyên mới có tên là III.2, gần giống với vị trí kháng nguyên III trên protein G. Theo các tiêu chí tương tự, ba vị trí bổ sung được xác định có tên là A, B và C. Vị trí A được xác định bằng một kháng thể RVB686 duy nhất mà khả năng liên kết của nó làm ảnh hưởng đến khả năng liên kết của đa số các kháng thể được gắn nhãn trong tập hợp, tuy nhiên ngược lại khả năng liên kết của RVB686 được gắn nhãn không bị cản trở bởi bất kỳ kháng thể nào trong tập hợp. Những kết quả này có thể đưa ra giả thuyết rằng khả năng liên kết của RVB686 bao gồm một tác động dị lập thể trên protein G, mà có khả năng tác động đến khả năng liên kết của hầu hết các kháng thể khác. Vị trí B được xác định bằng kháng thể RVC44 mà sự liên kết của nó không bị cản trở bởi bất kỳ kháng thể nào trong tập hợp. Tương tự, vị trí C được xác định bởi các kháng thể RVB143 và RVC68, cũng được nhận biết bởi quyết định kháng nguyên duy nhất và khác biệt so với tất cả các kháng thể còn lại. Lưu ý rằng, chỉ các kháng thể RVC44, RVB143 và RVC68 trong tập hợp các kháng thể này có khả năng liên kết bằng thẩm tách miễn dịch trên protein G dưới các điều kiện khử, cho thấy rằng chúng

nhận biết quyết định kháng nguyên mạch thẳng trên protein G RABV.

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

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

Tạo ra các virus kiểu giả và thử nghiệm trung hòa: các tế bào thận phôi người 293T dòng 17 (HEK 293T/17; ATCC CRL-11268) được sử dụng để tạo ra các lentivirus kiểu giả. Các thử nghiệm trung hòa được tiến hành trên các tế bào BHK-21 dòng 13 (ATCC CCL-10). Trong các đĩa 384 giếng, virus kiểu giả tạo ra 50-100 x 10⁴ đơn vị ánh sáng tương đối (RLU) được ủ với huyết thanh pha loãng hai lần hoặc các kháng thể trong 1 giờ tại 37% (5% CO₂) trước khi bổ sung thêm 3'000 tế bào BHK-21. Chúng được ủ thêm 48 giờ, sau khi loại bỏ dịch nổi và bổ sung thêm 15 µl thuốc thử Steadylite (Perkin Elmer). Hoạt tính enzym luciferaza được phát hiện sau 5 phút bằng các đọc các đĩa trên Synergy microplate luminometer (BioTek) (Wright et al. 2008). Phát hiện hiện tượng giảm lây nhiễm bằng cách so sánh RLU khi có mặt và không có mặt kháng thể và được biểu diễn bằng tỷ lệ trung hòa. Hiệu quả trung hòa của các kháng thể đơn dòng ở đây được đo là IC₉₀, được định tức là nồng độ kháng thể mà tại nồng độ này làm giảm 90% RLU so với các giếng virus đối chứng sau khi trừ đi RLU ban đầu trong các giếng tế bào đối chứng (ID₅₀ đối với huyết thanh, tức là độ pha loãng của huyết thanh tại mà tại đó RLU bị giảm đi 50%). Các giá trị ID₅₀ đối với huyết thanh tương ứng với độ pha loãng mà tại đó RLU bị giảm đi 50%.

Thử nghiệm đáp ứng tế bào lyssavirut và thử nghiệm trung hòa *in vitro*. Các RABV và lyssavirut không phải RABV được chọn được phân lập trên Neuro-2A (ATCC cat n. CCL-131), sau đó đáp ứng tế bào và tạo ra các gốc làm việc và chuẩn độ trên các tế bào BSR (là một dòng của tế bào BHK-21). Hai quy trình được thay đổi một chút từ thử nghiệm trung hòa virus với kháng thể huỳnh quang (mFAVN) và từ

thử nghiệm ức chế điểm huỳnh quang nhanh (mRFFIT) (FAVN: Cliquet, F., et al., J. Immunol Methods 212, 79–87, 1998; RFFIT: Smith, J. S., et al., Bull. World Health Organ. 48, 535–541, 1973, Warrell MJ, Riddell A, Yu LM, Phipps J, Diggle L, Bourhy H, Deeks JJ, Fooks AR, Audry L, Brookes SM, et al (2008) A simplified 4-site economical intradermal post-exposure rabies vaccine regimen: a randomised controlled comparison with standard methods. PLoS Negl Trop Dis 2: e224), lần lượt được áp dụng để kiểm tra hiệu lực của kháng thể nghiên cứu. CVS-11 được tinh sạch và chuẩn độ trên BSR hoặc BHK-21, lần lượt theo thử nghiệm trung hòa nhỏ giọt, RFFIT hoặc FAVN. Đồng thời, các thử nghiệm FAVN và RFFIT tiêu chuẩn cũng được thực hiện để đánh giá hiệu lực của các kháng thể được kiểm tra trong việc kháng lại CVS-11. Tóm lại, các thử nghiệm mFAVN dựa trên thử nghiệm FAVN tiêu chuẩn nhưng chúng được tiến hành trên các tế bào BSR.

Ngưỡng trung hòa là giá trị IC_{90} (đối với virus kiểu giả) hoặc là IC_{50} (đối với virus lây nhiễm) trên 10000 ng/ml. Nói cách khác, nếu thu được giá trị IC_{90} (đối với virus kiểu giả) hoặc IC_{50} (đối với virus lây nhiễm) trên 10000 ng/ml với một kháng thể, kháng thể đó được xem là “không trung hòa”.

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

Khi thử nghiệm trên các chủng virus lây nhiễm sử dụng thử nghiệm FAVN (Cliquet, F., et al., J. Immunol Methods 212, 79–87, 1998) hoặc thử nghiệm RFFIT (Smith, J. S., et al., Bull. World Health Organ. 48, 535–541, 1973), kháng thể RVC20 cũng có khả năng phản ứng rất tốt trong độ rộng phản ứng của nó trong việc trung hòa RABV, DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, BBLV cũng như nhóm loài II MOKV

(tham khảo Fig. 6; chỉ có một loài không được trung hòa là LBV). Mô tả chi tiết, đầy đủ về các chủng virus lây nhiễm được sử dụng có thể lấy từ Fig. 1. Theo một phân tích tương tự, kháng thể CD57 không trung hòa chủng EBLV-1 (khi quan sát với dạng virus kiểu giả), chủng LBV và chủng MOKV (tham khảo Fig. 6).

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

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

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

Nếu việc phân tích về phổ rộng phản ứng của kháng thể bị giới hạn ở lyssavirus không phải RABV (ghi nhận là dương tính với tất cả virus được trung hòa với giá trị $IC_{50} < 10000$ ng/ml), kháng thể RVC58 (liên kết với vị trí kháng nguyên III) có khả năng trung hòa 69% lyssavirus không phải RABV được thử nghiệm và, đáng chú ý là, trung hòa tất cả các chủng lyssavirus nhóm loài I được thử nghiệm. Trong khi đó, kháng thể CR4098 và RAB1 chỉ trung hòa lần lượt là 19% và 27% lyssavirus không

phải RABV và lần lượt 23% và 25% các lyssavirus nhóm loài I được thử nghiệm. Cùng với đó, kháng thể RCV20 (liên kết với vị trí kháng nguyên I) có khả năng trung hòa 72% lyssavirus không phải RABV và 91% lyssavirus nhóm loài I. Trong khi đó, kháng thể CR57 trung hòa lần lượt 47% và 68% lyssavirus không phải RABV và lyssavirus nhóm loài I.

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

Để nghiên cứu về khả năng của các kháng thể theo sáng chế trong việc trung hòa các chủng RABV khác nhau một cách chi tiết hơn, phân tích về hoạt tính trung hòa của các kháng thể RVC20 và RVC58 theo sáng chế, và của các kháng thể CR57 và CR4098 tham chiếu được mở rộng thành một tập hợp kháng thể lớn hơn gồm các chủng RABV (n=26, 24 virus và 2 virus kiểu giả), đại diện cho tất cả các giống hiện có (tức là, các giống ở châu Mỹ, châu Á, toàn thế giới, châu Phi 2, và châu Phi 3 và các giống ở bắc cực/tương tự bắc cực) (Fig.9). Toàn bộ 26 chủng RABV được trung hòa hiệu quả bằng các kháng thể RVC20 và RVC58 với các giá trị cấp số nhân trung bình của IC_{50} và IC_{90} lần lượt là 26 và 12 ng/ml. Trong khi đó, các kháng thể CR57 và CR4098 cũng trung hòa tất cả các RABV được thử nghiệm nhưng với giá trị IC_{50} và IC_{90} cao hơn, lần lượt là 61 và 100 ng/ml. Lưu ý rằng, kháng thể CR4098 trung hòa hai chủng RABV với giá trị $IC_{50} > 10000$ ng/ml, nồng độ mà hầu như không có hiệu quả trong *in vivo*.

Trong bước tiếp theo, phân tích về hoạt tính trung hòa RABV của các kháng thể tiếp tục được mở rộng, bao gồm kháng thể tham chiếu RAB1 và một tập hợp lớn hơn các chủng RABV (n=35, 27 virus và 8 virus kiểu giả; CVS-11 được thử nghiệm là virus lây nhiễm và là virus kiểu giả với Fig. 10 bao gồm CVS-11 được thử nghiệm như là virus lây nhiễm và Fig. 11 trình bày kết quả của cả ba thử nghiệm trung hòa được tiến hành với CVS-11, lần lượt là thử nghiệm trung hòa virus kiểu giả (PV), FAVN và

RFFIT), đại diện cho tất cả các giống hiện có (tức là, các giống ở châu Mỹ, châu Á, toàn thế giới, châu Phi 2, và châu Phi 3 và các giống ở bắc cực/tương tự bắc cực) (Fig.10B). Mô tả đầy đủ về các chủng có thể xem trong Fig. 1. Như được trình bày trong Fig. 10A, toàn bộ 35 chủng RABV được trung hòa hiệu quả bằng các kháng thể RVC20 và RVC58 với các giá trị IC_{50} (đối với các virus lây nhiễm) hoặc giá trị IC_{90} (đối với các virus kiểu giả) nằm trong khoảng từ 0,1 đến 140 ng/ml. Trong khi đó, các kháng thể tham chiếu CR57, CR4098 và RAB1 trung hòa toàn bộ các RABV được thử nghiệm, nhưng với hiệu lực thấp hơn đáng kể so với RVC20 và RVC58 và có khoảng giá trị IC_{50} hoặc IC_{90} lớn hơn (tức là, lần lượt là 0,6 – 969 ng/ml, 0,7 – 23600 ng/ml, 1 – 4153 ng/ml, tham khảo Fig. 10A). Tương tự như với RVC20 và RVC58, HRIG trung hòa phần lớn các chủng RABV được thử nghiệm với khoảng giá trị IC_{50} nhỏ. Quan trọng là, các kháng thể CR4098 và RAB1 trung hòa lần lượt sáu chủng RABV và ba chủng RABV, với giá trị $IC_{50} > 1000$ ng/ml (tham khảo Fig. 10A), nồng độ mà hầu như không có hiệu quả trong phòng ngừa sau phơi nhiễm.

Phân tích này được mở rộng ra tới 8 chủng RABV khác mà khả năng gắn của các kháng thể vào các tế bào biến nạp G-protein được thử nghiệm bằng kỹ thuật đếm dòng chảy tế bào (Fig. 11). Toàn bộ gen G trong các chủng RABV được tối ưu hóa mã bộ ba để biểu hiện tế bào nhân thực và tách dòng vào trong vector pCMV1 (Genlantis). Các plasmid biểu hiện protein G được sử dụng để biến nạp các tế bào 293F-Expi. Ba ngày sau khi biến nạp, thu lấy các tế bào, cố định và nhuộm với saponin để nhuộm màu miễn dịch cho tất cả kháng thể thử nghiệm. Khả năng gắn của các kháng thể vào các tế bào biến nạp được phân tích sử dụng Becton Dickinson FACSCanto2 (BD Biosciences) với phần mềm FlowJo (TreeStar). Như được trình bày trong Fig. 11, tất cả các chủng RABV này được nhận biết bởi kháng thể RVC20 và RVC58, trong khi RAB1 không liên kết với chủng 91001USA và CR57 không liên kết với các chủng RV/R.3PHL/2008/TRa-065 và 09029NEP. Những phát hiện này làm tăng thêm số lượng các chủng được diện biết bởi RVC20 và RVC58 lên tới 43 chủng.

Fig. 10B thể hiện cây phát sinh loài của 2215 trình tự protein G RABV lấy từ cơ sở dữ liệu công cộng. Những chấm màu đen in đậm là các trình tự của virus RABV được thử nghiệm (không có mặt hai trình tự protein G, tức là CV9.13, Mauritania/dog/2019-2006/V6235-2007 và do đó chúng không nằm trong cây phát sinh loài). Điều này chỉ ra rằng các virus RABV được thử nghiệm (các chấm màu đen)

đại diện cho tất cả các giống hiện có (tức là, các giống ở châu Mỹ, châu Á, toàn thế giới, châu Phi 2, và châu Phi 3 và các giống ở bắc cực/tương tự bắc cực).

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

Ví dụ 5: Xây dựng bản đồ quyết định kháng nguyên sử dụng virus kiểu giả đột biến

Để tinh sạch hơn các quyết định kháng nguyên đặc hiệu trong số 12 kháng thể đơn dòng được chọn, chúng được thử nghiệm kháng lại virus RABV dạng giả được thiết kế di truyền. Cụ thể là, đột biến axit amin K226E, K226N, G229E, N336D và N336S được tìm thấy trong các thể đột biến thoát virus CR57 và CR4098 đã được mô tả trong Bakker, A. B. H. et al., *J Virol* 79, 9062–9068, 2005 and in Marissen, W. et al., *J Virol* 79, 4672–4678, 2005, được đưa vào trong gen G của CVS-11 và tạo ra các virus kiểu giả đột biến tương ứng.

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

kháng thể CR57 chỉ ra rằng cách kháng thể RVC20 nhận biết quyết định kháng nguyên cùng gốc của nó tại vị trí kháng nguyên I khác biệt so với cách nhận biết của kháng thể CR57, có thể chịu được nhiều đột biến axit amin tại vị trí liên kết và xung quanh các gốc hơn.

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

Ví dụ 6: Phân tích sự bảo thủ của các quyết định kháng nguyên RVC20 và RVC58 trong các chủng RABV

Vị trí kháng nguyên I nhận diện bởi kháng thể CR57 được xác định bằng phân tích quét peptit và bằng cách phân lập các thể đột biến thoát virus K226N, và G229E và phát hiện để xác định vị trí vùng liên kết nhỏ nhất được tạo thành bởi các gốc KLCGVL (trình tự liên ứng và các vị trí 226-231 của protein G RABV; Marissen, W. et al., J. Virol 79, 4672–4678, 2005). Các kết quả cạnh tranh trình bày trong Fig. 4 và các kết quả thử nghiệm virus kiểu giả đột biến được trình bày trong Fig. 14 chỉ ra rằng kháng thể RVC20 liên kết với vị trí kháng nguyên I. Do đó, các tác giả sáng chế đã phân tích mức độ bảo thủ của các gốc axit amin trên vị trí kháng nguyên I trong một tập hợp gồm 2566 trình tự thu được từ các chủng RABV độc lập lấy từ các cơ sở dữ liệu công cộng đại diện cho sự đa dạng RABV trên toàn cầu.

Nhờ đó, phát hiện ra rằng vị trí 226 là K chiếm 99,73% và là R chiếm 0,19% trình tự được phân tích (R hoặc K chiếm 99,92% các chủng) (Fig. 15). Kháng thể RVC20, chứ không phải kháng thể CR57 trung hòa virus bám vào cả vị trí K và R (Fig. 16). Vị trí đa hình còn lại trên vị trí kháng nguyên I là gốc 231, vị trí này là L chiếm 67,65%, là S chiếm 17,30% và là P chiếm 14,73% các chủng RABV được phân tích (L, S hoặc P có mặt trong 99,69% các trình tự, Fig 15A). Các kháng thể RVC20 và CR57 được thử nghiệm và trung hòa các lyssavirut liên kết với các gốc leuxin, serin hoặc prolin tại vị trí 231 (Fig. 16). Phân tích này đã xác nhận các kết quả trung hòa

trước đó của chúng tôi và chỉ ra rằng quyết định kháng nguyên kháng thể RVC20 bảo thủ cao trong RABV. Quan trọng là, cả ba thể đột biến CVS-11 thoát CR57 và RVC20 tại vị trí 226 đều được trung hòa hiệu quả bởi kháng thể RVC58.

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

Nhờ đó, phát hiện ra rằng các vị trí 330, 331, 334, 335 và 337 bảo thủ cao (>99,61%), trong khi các vị trí 332, 333, 336 và 338 là đa hình (Fig. 15B). Vị trí 330 là K chiếm 99,61% và là N chiếm 0,27% các trình tự phân tích (K hoặc N có mặt trong 99,88% các trình tự). Kháng thể RVC58 cho thấy khả năng trung hòa virus bám vào K hoặc N tại vị trí 330 (Fig. 16). Vị trí 331 bảo thủ cao được mã hóa bởi S chiếm 99,96% các chủng. Vị trí 332 là V chiếm 77,05% và là I chiếm 22,88% các trình tự (V hoặc I có mặt trong 99,93% các chủng). Kháng thể RVC58 cho thấy khả năng trung hòa các lyssavirut liên kết với V hoặc I tại vị trí 332. Vị trí 333 là R chiếm 96,22% các chủng. Một vài gốc khác, nhưng không phải là D, được tìm thấy tại vị trí 333 trên các chủng RABV. Ngược lại, các lyssavirut nhóm loài II liên kết với D tại vị trí này và các virus này không bị trung hòa bởi kháng thể RVC58, do đó, đưa ra giả thuyết rằng D tại vị trí 333 có thể tác động đến khả năng liên kết của RVC58, nhưng gốc này không được tìm thấy trong các chủng RABV tự nhiên. Vị trí 334 là T chiếm 99,65% các chủng. Vị trí 335 là W chiếm 100% các chủng. Vị trí 336 là N chiếm 90,57%, là D chiếm 3,59%, là S chiếm 5,65% và là K chiếm 0,08% các chủng RABV được phân tích (N, D, S hoặc K có mặt trong 99,89% các chủng). Kháng thể RVC58 có khả năng trung hòa các lyssavirut liên kết với N, D, S hoặc K tại vị trí 336. Lưu ý rằng, RABV liên kết với D tại vị trí 336 không bị trung hòa bởi kháng thể CR4098 và RAB1, do đó đưa ra giả

thuyết rằng 4% RABV hiện có kháng lại sự trung hòa của kháng thể CR4098 và RAB1 một cách hiệu quả. Lưu ý rằng, đa số các chủng RABV châu Phi được phân tích ở đây (59,1%) liên kết với D tại vị trí đại diện 336. Các chủng này tương ứng với giống Châu Phi 2. Vị trí 337 là E chiếm 99,61% và là D chiếm 0,35% các chủng (E hoặc D có mặt trong 99,96% các chủng). Kháng thể RVC58 cho thấy có khả năng trung hòa các lyssavirut liên kết với E hoặc D tại vị trí 337. Cuối cùng, vị trí 338 là I chiếm 93,73% và là V chiếm 6,16% các chủng phân tích (I hoặc V có mặt trong 99,9% các chủng). Kháng thể RVC58 cho thấy khả năng trung hòa các lyssavirut liên kết với I hoặc V tại vị trí 338.

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

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

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

Để nghiên cứu liệu các kháng thể RVC58 và RVC20 trình diễn hoạt tính trung hòa kháng lại lây nhiễm RABV với liều gây chết *in vivo*, chúng tôi thực hiện nghiên cứu trên chuột đồng Xy-ri (*Mesocricetus auratus*). Sau 6 giờ cung cấp một liều RABV CVS-11 gây chết (50 μ l của $10^{5.7}$ TCID₅₀/ml vào cơ bụng chân ở chân trái sau, chuột đồng (n=12 cho mỗi nhóm) không được điều trị hoặc phòng ngừa, được bắt đầu với một trong hai loại vacxin (Imovax; Sanofi-Pasteur: vacxin tế bào lưỡng bội người bất hoạt thương mại, loại này được tiêm bắp với thể tích 0,05 ml vào cơ bụng chân ở chân trái sau, một liều tương ứng với 0,125 đơn vị quốc tế của kháng nguyên đại) cộng với

HRIG (Berirab[®], 20 mg/kg, tương đương với 20 IU/kg và được tiêm bắp với thể tích 0,05 ml), hoặc vacxin cộng với 0,045 mg/kg một hỗn hợp đẳng mol của các kháng thể RVC20 và RVC58 hoặc vacxin cộng với 0,045 mg/kg một hỗn hợp đẳng mol của các kháng thể RVC20 và RVC58. Động vật được điều trị cũng được nhận vacxin đại vào các ngày 3, 7, 14, và 28. Theo dõi các động vật trong suốt thời gian tiến hành thí nghiệm và giết chết nhân đạo nếu xuất hiện các dấu hiệu đại lâm sàng. 11 trên 12 động vật không được điều trị sau lây nhiễm đã chết vào ngày thứ 8 (Fig. 17). Phòng ngừa sau phơi nhiễm tiêu chuẩn (PEP) dựa trên 20 mg/kg HRIG và vacxin đã làm giảm đáng kể tỷ lệ tử vong xuống 33% (có 8/12 động vật sống sót; Fig. 17). Đáng chú ý là, việc kết hợp các RVC58+RVC20 tại nồng độ 0,045 mg/kg (tương đương với 1/440 HRIG được cung cấp) bảo vệ được 75% các động vật (9/12), trong khi đó, tại liều lượng RVC58+RVC20 thấp hơn 10 lần (0,0045 mg/kg) chỉ bảo vệ được 33% động vật. Điều này đưa ra giả thuyết rằng nồng độ 0,045 mg/kg RVC58+RVC20 là phù hợp nhất với liều lượng 20 mg/kg HRIG. Liều bảo vệ của 0,045 mg/kg RVC58+RVC20 tương ứng ở người với tổng liều trung bình được cung cấp trong suốt quá trình phòng ngừa sau phơi nhiễm PEP chỉ là 3mg hỗn hợp RVC58+RVC20. Lượng này có thể được sản xuất và đưa vào dược phẩm ở dạng ổn định (tức là được phẩm được đông khô lạnh, mà ở các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng các kháng thể đơn dòng được bảo quản bằng đông khô lạnh ổn định trong thời gian 33 tháng tại nhiệt độ 40°C và trong 5 tháng tại nhiệt độ 50°C) và với một chi phí hợp lý cho các nước đang phát triển.

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

Trong suốt quá trình phòng ngừa sau phơi nhiễm PEP, có khả năng việc sử dụng đồng thời các kháng thể và vacxin làm giảm khả năng của vacxin trong việc tạo ra các ngưỡng trung hòa của các kháng thể cần thiết đối với việc bảo vệ. Do đó, điều quan trọng là cần đánh giá mức độ mà kháng thể điều trị tác động đến việc chủng ngừa vacxin. Để xác định tác động của hỗn hợp kháng thể đến hiệu lực vacxin, một thử nghiệm trên động vật in vivo đã được thực hiện với sự vắng mặt của RABV thử thách. Cụ thể là, tất cả động vật (n=12 cho mỗi nhóm) được chủng ngừa với vacxin bệnh dại vào ngày 0, 3, 7, 14 và 28 (Imovax[®], Sanofi-Pasteur, được tiêm bắp với thể tích 0,05 ml vào cơ bụng chân ở chân phải sau, một liều lượng tương đương với 0,125 đơn vị quốc

tế của kháng nguyên bệnh dại) và cung cấp đồng thời HRIG vào ngày thứ 0 (Berirab®, 20 mg/kg) hoặc một hỗn hợp đẳng mol RVC58+RVC20 với lượng 0,045 mg/kg hoặc 40 mg/kg (liều lượng cao hơn 888 lần) được tiêm tiêm bắp vào cơ bụng chân ở chân phải sau. Hàm lượng gắn kết huyết thanh (được đo bằng ELISA trên đĩa phủ G-protein của RABV bằng cách phát hiện các kháng thể chuột đồng liên kết với G-protein bằng kháng thể đa dòng kháng chuột đồng liên hợp với alkaline-phosphatase), hàm lượng trung hòa huyết thanh (thử nghiệm trung hòa FAVN trên CVS-11; theo Cliquet, F., et al., J. Immunol Methods 212, 79–87, 1998) và nồng độ các kháng thể IgG người còn lại được xác định vào ngày thứ 42. HRIG và 0,045 mg/kg RVC58+RVC20 không làm giảm lượng kháng thể gắn IgG chuột đồng nội sinh phản ứng với protein G của RABV (Fig. 18A) so với các động vật chỉ nhận mỗi vaccin. Lưu ý rằng, mức độ trung hòa kháng thể trong động vật được điều trị ở cả hai liều lượng 0,045 và 40 mg/kg tương đương với mức độ trung hòa do mỗi vaccin gây ra hoặc do vaccin và HRIG hiệp đồng điều trị và trong hầu hết các động vật có hàm lượng trung hòa trên 10 IU/ml (Fig. 18B). Cuối cùng, trong khi các nồng độ cao của các kháng thể người (trên 10 IU/ml) vẫn tìm thấy vào ngày 42 ở động vật được điều trị với 20 mg/kg HRIG hoặc 40 mg/kg RVC58+RVC20, những nồng độ rất thấp của IgG người không thể phát hiện được tìm thấy trong huyết thanh của động vật được điều trị với 0,045 mg/kg RVC58+RVC20 (Fig. 18C). Những kết quả này đưa ra giả thuyết rằng liều lượng 0,045 mg/kg RVC58+RVC20, là liều lượng được cho là có khả năng bảo vệ, không làm ảnh hưởng đến việc sản xuất các kháng thể trung hòa virus ở các động vật khi chủng ngừa vaccin RABV.

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

Hiện nay, không có liệu pháp để điều trị bệnh dại. Việc nghiên cứu phát triển liệu pháp điều trị bệnh sẽ giúp ích cho ít nhất hai nhóm bệnh nhân: những người biết là bị phơi nhiễm với RABV nhưng họ không nhận được phòng ngừa sau phơi nhiễm ngay lập tức do hoàn cảnh và họ có nguy cơ phát triển lây nhiễm RABV cao, và những người không biết là đã tiếp xúc với virus và xuất hiện các dấu hiệu (có mức độ nghiêm trọng khác nhau) của bệnh (ví dụ, những cá thể bị lây nhiễm do không để ý tiếp xúc với dơi bị nhiễm bệnh; RABV có nguồn gốc từ dơi, nơi mà bệnh dại ở chó đã được kiểm soát trở thành nguyên nhân gây ra bệnh dại ở người). Việc tiêm một

hoặc nhiều dung dịch hỗn hợp RVC58 và RVC20 (tức là hỗn hợp kháng thể RVC58 và RVC20 đẳng mol) sẽ cung cấp nồng độ cao các kháng thể trung hòa hệ thống (bao gồm hệ thần kinh trung ương CNS) và cản trở sự nhân lên của virus và sự tiến triển của bệnh. Việc phát triển nghiên cứu dung dịch hỗn hợp các kháng thể trung hòa tiềm năng và phổ phản ứng rộng giúp kéo dài thời gian điều trị sau phơi nhiễm đối với lây nhiễm RABV ở người, cái mà hiện nay đang bị giới hạn ở ngày đầu tiên sau lây nhiễm. Ở những người này, RV có thể đã tấn công đến các mô thần kinh trung ương (CSN) và các dấu hiệu sớm hoặc muộn của bệnh cũng đã xuất hiện. Những bệnh nhân này có thể hưởng lợi từ việc điều trị với các kháng thể trung hòa tiềm năng cái có thể đi qua hàng rào máu não (hoặc được cung cấp trực tiếp tới hệ thần kinh trung ương CNS) để cung cấp đủ lượng kháng thể có khả năng trung hòa hiệu quả sự nhân lên của virus trong các mô thần kinh trung ương.

Tiềm năng trị liệu của các kháng thể RVC58+RVC20 được đánh giá ở chuột đồng Xy-ri được thử thách với chủng RABV ở liều gây chết. Cụ thể là, RVC58+RVC20 được thử nghiệm ở chuột đồng Xy-ri thử thách trong cơ bụng chân ở chân sau với liều lượng gây chết của một trường virus được phân lập từ tuyến nước bọt của cáo nhiễm bệnh (Italy/red fox/673/2011). Ở các động vật bị lây nhiễm, phát hiện thấy RABV ở hệ thần kinh trung ương vào ngày thứ 5 sau thử nghiệm. Các động vật được điều trị với một liều 40 mg/kg RVC58+RVC20 vào ngày thứ nhất (n=12), vào ngày thứ 5 (n=12) hoặc vào ngày thứ 9 (n=7) sau khi lây nhiễm mà không đi đôi với cung cấp vaccin. Nhóm đối chứng cũng được nhận dung dịch muối đệm photphat (n=17) hoặc điều trị phòng ngừa sau phơi nhiễm PEP tiêu chuẩn (20 mg/kg HRIG và vaccin; n=12). Các động vật được theo dõi hai lần mỗi ngày và giết chết nhân đạo nếu xuất hiện các triệu chứng lâm sàng của bệnh dại. Đáng chú ý là, RVC58+RVC20 bảo vệ các động vật khỏi sự lây nhiễm với liều gây chết khi cung cấp sau tới 5 ngày lây nhiễm (Fig. 19). Lưu ý rằng, 3 trên 12 động vật được điều trị xuất hiện các triệu chứng lâm sàng của bệnh (bại liệt ở vị trí chân sau được thử thách), tuy nhiên các triệu chứng này không phát triển thêm. Trong mô hình này, phòng ngừa sau phơi nhiễm PEP cổ điển chỉ bảo vệ hơn một chút so với các động vật không được điều trị (Fig. 19). Không xuất hiện các dấu hiệu của bệnh ở những động vật sống sót sau tới 60 ngày lây nhiễm.

Ở tất cả các động vật đã chết và ở những con còn sống (cả những con đã chết

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

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

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

động vật được điều trị với liều lượng RVC58+RVC20 cao mà không xuất hiện các triệu chứng.

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

Bảng các trình tự và SEQ ID

SEQ ID Số	Mô tả	Trình tự*
Kháng thể RVA122		
1	Axit amin CDRH1	<u>gds</u>mnnfy
2	Axit amin CDRH2	iyysg <u>tt</u>
3	Axit amin CDRH3	ardsgdyvsyyyygmdv

4	Axit amin CDRL1	ssnigsny
5	Axit amin CDRL2	<u>ksd</u>
6	Axit amin dài CDRL2	LIY <u>ksd</u> KRP
7	Axit amin CDRL3	aawdnrlsgw!
8	Nucleiotit CDRH1	GGTGACTCCATGAATAATTTCTAC
9	Nucleiotit CDRH2	ATCTATTACAGTGGGACCACC
10	Nucleiotit CDRH3	GCGAGAGACTCCGGTGACTACGTCA GCTACTACTATTATGGTATGGACGT C
11	Nucleiotit CDRL1	AGCTCCAACATCGGAAGTAATTAT
12	Nucleiotit CDRL2	AAGAGTGAT
13	Nucleotit dài CDRL2	cttatttac AAGAGTGAT aagcggccc
14	Nucleiotit CDRL3	GCAGCATGGGATAACAGGCTGAGTG GTTGGCTC
15	Axit amin chuỗi nặng	QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS gdsm nnfy WG_WIRQP_AGKGLEWIGY iyysgtt NY NPSLKSRVTISIDTSKNQFSLK_VNSVTAA DTAVYYC ardsgdyvsyyyygmdv WGP_GTTV TVSS
16	Axit amin chuỗi nhẹ	QSVLTQSPSASDTPGQRVTISCSGS ssnigs ny VYWYQQEPGTAPKLLIY <u>ksd</u> KRPSGVP DRFSGSTSGTSASLAISGLRSEDEADYYC aawdnrlsgw! FGGGTKLTVL

17	Nucleotit chuỗi nặng	caggtgcacctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcct tcggagaccctgtccctcacctgcactgtctct GGTGAC TCCATGAATAATTTCTAC tggggctggatcc ggcagcccgaggggaagggactggagtggttgatat AT CTATTACAGTGGGACCACC aactacaaccc ctccctcaagagtcgagtcaccatatcaatagacacgtccaag aaccaattctccctgaaggtgaactctgtgaccgctgcggaca cggccgtgtattattgt GCGAGAGACTCCGGTG ACTACGTCAGCTACTACTATTATGGT ATGGACGTC tggggcccagggaccacggtcaccgt ctcctcag
18	Nucleotit chuỗi nhẹ	cagtctgtgctgactcagtcaccctcagcgtctgataccccgg gcagagggtcaccatctcttgttctggaagc AGCTCCA ACATCGGAAGTAATTAT gtgtattggtaccag cagttcccaggaacggccccaaactccttatttac AAGA GTGATA aagcgccctcaggggtccctgaccgattctctg gtccacgtctggcacctcagcctccctggccatcagtggtg ccggtccgaagatgaggtgattattactgt GCAGCAT GGGATAACAGGCTGAGTGGTTGGCT Cttcggcggagggacgaagctgaccgtcctag
Kháng thể RVA144		
19	Axit amin CDRH1	ggsistify
20	Axit amin CDRH2	vyyngh t
21	Axit amin CDRH3	arpstydisgr
22	Axit amin CDRL1	ssnigagy d
23	Axit amin CDRL2	gn t
24	Axit amin dài CDRL2	LIY gn t KRP
25	Axit amin CDRL3	qsf dssls awv

26	Nucleiotit CDRH1	GGTGGTTCCATCAGCAGTACTATTT TCTAC
27	Nucleiotit CDRH2	GTCTATTATAATGGACACACC
28	Nucleiotit CDRH3	GCGAGACCCTCAACATATGACTACA GTATTGGGCGC
29	Nucleiotit CDRL1	AGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATG AT
30	Nucleiotit CDRL2	GGTAACACC
31	Nucleotit dài CDRL2	ctcatctat GGTAACACC aagcggccc
32	Nucleiotit CDRL3	CAGTCCTTTGACAGCAGCCTGAGTG CTTGGGTA
33	Axit amin chuỗi nặng	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS ggsiss tify WGWRQPPGKGLEWIGS yyyngh tYYN PSLKSRVAISIDKSKNQFSLRLNSVTAAD TAVYYC arpsty dysigrWGQGTLVTVSS
34	Axit amin chuỗi nhẹ	QSVLTQPPSVSRAPGQRVTISCTGS ssniga gyd VHWYQQLPGTAPKLLIY gnt KRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAITGLL TE DEADYY Cqsf dssls awv FGGGTKLTVL
35	Nucleotit chuỗi nặng	cagctgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcc ctcggagaccctgtccctcactgcactgtctct GGTGGT TCCATCAGCAGTACTATTTTCTAC tgg ggetggatccgccagccccaggggaagggactggagtggat tgggagt GTCTATTATAATGGACACAC Ct actacaatccgtccctcaagagtcgagtcgccatatccattgac aagtccaagaaccagttctccctgaggcttaactctgtgaccgc cgcggaacaggtgtatattactgt GCGAGACCCTC AACATATGACTACAGTATTGGGCGC t

		ggggccaggggaaccctgggtcaccgtctcctcag
36	Nucleotit chuỗi nhẹ	cagtccgtgctgacgcagccgccctcagtgtctcggggccca gggcagaggggtcaccatctcctgactgggagc AGCTC CAACATCGGGGCAGGTTATGAT gtcca ctgggtaccagcaacttcaggaacagccccaaactcctcatct at GGTAACACCA aagcggccctcaggggtccctgacc gattctctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatc actgggctcctgactgaggatgaggctgattattactgcc AG TCCTTTGACAGCAGCCTGAGTGCTT GGGT Attcggcggaggggaccaaactgaccgtcctgg
Kháng thể RVB185		
37	Axit amin CDRH1	<u>gapvsgvnsy</u>
38	Axit amin CDRH2	<u>ikysgst</u>
39	Axit amin CDRH3	<u>arqst</u> mtgrdy
40	Axit amin CDRL1	<u>rsnigshp</u>
41	Axit amin CDRL2	<u>gds</u>
42	Axit amin dài CDRL2	LIY <u>gds</u> QRP
43	Axit amin CDRL3	aawddsls <u>glwv</u>
44	Nucleiotit CDRH1	GGTGCCCCCGTCAGTGGTGTTAACT CCTAC
45	Nucleiotit CDRH2	ATCAAGTACAGTGGGAGCACC
46	Nucleiotit CDRH3	GCCAGACAAAGTACTATGACGGGGCC GGGACTAC
47	Nucleiotit CDRL1	AGATCCAACATCGGAAGCCATCCT

48	Nucleiotit CDRL2	GGTGATAGT
49	Nucleotit dài CDRL2	ctcatctat GGTGATAGT cagcgaccc
50	Nucleiotit CDRL3	GCAGCATGGGATGACAGCCTGAGTG GCCTTTGGGTG
51	Axit amin chuỗi nặng	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCSVS g <u>apvs</u> <u>gvnsy</u> WYWIRQPPGKGLEWIA <u>Tikysgst</u> <u>HR</u> <u>SPSLR</u> <u>SRVTISVDTSKNQFSLEL</u> <u>SSVTAA</u> DTAVYYC arqstmtgrdy WGQGTLVTVSS
52	Axit amin chuỗi nhẹ	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGS r <u>snigs</u> <u>hp</u> VNWFYQQLPGA <u>AAPKLLIY</u> <u>gds</u> QRPSGVP DRFSGSKSGPSASLAISGLQSEDEADYYC aawddslsglwv FGGGTKLTVL
53	Nucleotit chuỗi nặng	caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcc ttcggagaccctgtccctcacctgcagtgctcc GGTGCC CCCGTCAGTGGTGTAACTCCTAC tgg gtgtggatccgccagccccccgggaaggggctggagtggatt gcgact ATCAAGTACAGTGGGAGCACCC c accgtagcccgtcgctcaggagtcgagtcaccatatccgtaga cacgtccaagaatcagttctccctggagctgagctctgtgaccg ccgctgacacggctgtatattactgt GCCAGACAAA GTACTATGACGGGCCGGGACTAC tgg ggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag
54	Nucleotit chuỗi nhẹ	cagtctgtgctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccg ggcagagggtcaccatctctgttctggaagc AGATCCA ACATCGGAAGCCATCCT gtaaactggtacca gcagctcccgggagcggcccccaagctcctcatctat GGT GATAGT cagcgaccctcaggggtccctgaccgattctct ggctccaagtctggcccctcagcctccctggccatcagtgga tccagtctgaagatgaggctgattattactgt GCAGCAT

		GGGATGACAGCCTGAGTGGCCTTTG GGTGttcggcggaggaccagctgaccgtcctaa
Kháng thể RVB492		
55	Axit amin CDRH1	gfsfssya
56	Axit amin CDRH2	<u>Insidhrt</u>
57	Axit amin CDRH3	argvglwfgelswnyfdy
58	Axit amin CDRL1	sndiggyny
59	Axit amin CDRL2	yvn
60	Axit amin dài CDRL2	MIFyvnKRP
61	Axit amin CDRL3	csfagsysl
62	Nucleiotit CDRH1	GGATTCAGCTTTAGCAGCTATGCC
63	Nucleiotit CDRH2	CTTAATTCTATTGATCATAGAACA
64	Nucleiotit CDRH3	GCTCGGGGGGTGGGACTATGGTTCG GTGAATTATCCTGGAATTACTTTGAC TAC
65	Nucleiotit CDRL1	AGCAATGATATTGGTGGTTATAACT AT
66	Nucleiotit CDRL2	TATGTCAAT
67	Nucleotit dài CDRL2	atgattttTATGTCAATaagcggccc
68	Nucleiotit CDRL3	TGCTCATTTGCAGGCAGTTACTCCTT A
69	Axit amin biến thể 1 chuỗi nặng	EVQLMESGGGLVQPGGSMRLYCAASgfs fssyaMSWVRQAPGKGLEWVSS <u>InsidhrtD</u>

		YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMD <u>SLR</u> <u>VEDS</u> <u>AM</u> YYCargv <u>glwfgelswnyfdy</u> WGQG TLVTVSS
70	Axit amin biến thể 2 chuỗi nặng	EVQLVQSGGGLVQPGGSMRLYCAAS <u>gfs</u> <u>fssya</u> MSWVRQAPGKGLEWVSS <u>InsidhrtD</u> YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMD <u>SLR</u> <u>VEDS</u> <u>AM</u> YYCargv <u>glwfgelswnyfdy</u> WGQG TLVTVSS
71	Axit amin chuỗi nhẹ	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGT <u>sndigg</u> <u>yny</u> VSQYQQHPGKAPKLMIF <u>yvn</u> KRPSG VPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAED EADYYC <u>csfagsys</u> IFGRGTKLTVL
72	Nucleotit biến thể 1 chuỗi nặng	gaggtgcagctgatggagctctgggggaggcctggtacagcc gggggggtccatgagactctactgtgcagcctct GGATT CAGCTTTAGCAGCTATGCC atgagctgggt ccgccaggctccaggaaggggctcgagtgggtctcaagt C TTAATTCTATTGATCATAGAACA gacta tgcagactccgtgaagggccggttcaccatctccagagacaat tccaagaacaccctgtatttacaatggacagcctgagagtcga ggactcggccatgtattactgt GCTCGGGGGGGTG GGACTATGGTTCGGTGAATTATCCT GGAATTACTTTGACTAC tggggccaggggaac cctggtcaccgtctcctcag
73	Nucleotit biến thể 2 chuỗi nặng	gaggtgcagctggtgcagctctgggggaggcctggtacagcc gggggggtccatgagactctactgtgcagcctct GGATT CAGCTTTAGCAGCTATGCC atgagctgggt ccgccaggctccaggaaggggctcgagtgggtctcaagt C TTAATTCTATTGATCATAGAACA gacta tgcagactccgtgaagggccggttcaccatctccagagacaat tccaagaacaccctgtatttacaatggacagcctgagagtcga ggactcggccatgtattactgt GCTCGGGGGGGTG

		GGACTATGGTTCGGTGAATTATCCT GGAATTACTTTGACTAC tggggccaggaac cctggtcaccgtctcctcag
74	Nucleotit chuỗi nhẹ	cagtctgccctgactcagcctcgctcagtgccgggtctcctgg acagtcagtcaccatctcctgcactggaacc AGCAATG ATATTGGTGGTTATAACTAT gtctcctgg accaacaacacccaggcaaagcccccaactcatgatttt T ATGTCAAT aagcggccctcaggggtccctgatcgttc tctggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgg gctccaggctgaggatgaagctgattattactgc TGCTCA TTTGCAGGCAGTTACTCCTTA tcggcag agggaccaagctgaccgtcctag
Kháng thể RVC3		
75	Axit amin CDRH1	<u>t</u>ftfr<u>n</u>ya
76	Axit amin CDRH2	is<u>a</u>sgs<u>t</u>
77	Axit amin CDRH3	akfahdfwsgysyfd<u>s</u>
78	Axit amin CDRL1	qsv<u>n</u>sn
79	Axit amin CDRL2	gas
80	Axit amin dài CDRL2	LIY gas TRA
81	Axit amin CDRL3	qqynnwvsit
82	Nucleiotit CDRH1	ACATTCACGTTTAGAACTATGCC
83	Nucleiotit CDRH2	ATTAGTGCTAGTGGTAGTAGCACG
84	Nucleiotit CDRH3	GCGAAATTTGCTCACGATTTTTGGA GTGGTTATTCTTACTTTGACTCC
85	Nucleiotit CDRL1	CAGAGTGTTAACAGCAAC
86	Nucleiotit CDRL2	GGTGCATCC

87	Nucleotit dài CDRL2	ctcatctat GGTGCATCC accagggcc
88	Nucleiotit CDRL3	CAGCAGTATAATAATTGGGTTTCGA TCACC
89	Axit amin chuỗi nặng	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAAS <u>tftfr</u> <u>nya</u> MSWVRQAPGKGLD WVS <u>Gis</u> <u>asgsst</u> <u>NY</u> <u>AASL</u> KGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRA EDTAVYYC akfahdfwsgysyfd <u>s</u> WGQGT LV TVSS
90	Axit amin chuỗi nhẹ	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRA G <u>qsv</u> <u>nsn</u> LAWYQQKPGQAP RLLIY <u>gas</u> TRATGIP ARFSGSGSGTEFTLT ISS LQSEDFAVYYC qqynnwvsit FGQG TRLEIK
91	Nucleotit chuỗi nặng	gaggtgcagctgttgagctctgggggaggcctggtgcagccg gggggggtccctgagactctcctgtgcagcctct ACATTC ACGTTTAGAAACTATGCC atgtcctgggtcc gccaggctccaggaaggggctggactgggtctcaggg AT TAGTGCTAGTGGTAGTAGCACG aattat gcagcctccctgaagggccgattaccatctccagagacaattc caagaacacattgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgag gacacggccgtctattactgt GCGAAATTTGCTC ACGATTTTTGGAGTGGTTATTCTTAC TTTGACTCC tggggccaggaaccctggtcaccgtct cctcag
92	Nucleotit chuỗi nhẹ	gaaatagtgatgacgcagctctccagccaccctgtctgtgtctcc aggggaaagagccaccctctcctgcagggccggt CAGA GTGTTAACAGCAAC ttagcctggtaccagcaga aacctgggcaggtcccagactcctcatctat GGTGCAT CC accagggccactggtatcccagccaggttcagtggcagt gggtctgggacagagttcactctcaccatcagcagcctgcagt

		ctgaagattttgcagtttattactgt CAGCAGTATAAT AATTGGGTTTCGATCACCTtcggccaaggg acacgactggagattaaac
Kháng thể RVC20		
93	Axit amin CDRH1	ggsfssgsys
94	Axit amin CDRH2	iyysgst
95	Axit amin CDRH3	argtysdfwsgspldy
96	Axit amin CDRL1	qgisny
97	Axit amin CDRL2	aas
98	Axit amin dài CDRL2	LIY aas SLQ
99	Axit amin CDRL3	qqydytplt
100	Nucleiotit CDRH1	GGTGGCTCCTTCAGCAGTGGAAGTT ACTCC
101	Nucleiotit CDRH2	ATCTATTACAGTGGGAGCACT
102	Nucleiotit CDRH3	GCGAGAGGCACGTATTCCGATTTTT GGAGTGGTTCCCCTTTAGACTAC
103	Nucleiotit CDRL1	CAGGGCATTAGCAATTAT
104	Nucleiotit CDRL2	GCTGCATCC
105	Nucleotit dài CDRL2	ctgatctat GCTGCATCC agtttgcaa
106	Nucleiotit CDRL3	CAACAGTATGATACTTACCCTCTCAC T
107	Axit amin chuỗi nặng	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS ggsfs sgsys WNWIRQHPGKGLEWIGY iyysgst YY NPSLKSRVTMSVHTSKNQFSLKLNSITA ADTAVYYC argtysdfwsgspldy WGQGTLV

		TVSS
108	Axit amin chuỗi nhẹ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS qgis ny LAWFQQKPGKAPKSLIY aas SLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDFV TYFC qqy dt pl tFGGGTKVEIK
109	Nucleotit chuỗi nặng	caggtgcagctgcaggagtcgggccaggactggtgaagcc ttcacagaccctgtccctcacctgcactgtctcc GGTGGC TCCTTCAGCAGTGGAAGTTACTCC tgg aactggatccgccagcaccaggaagggcctggagtggatt gggtac ATCTATTACAGTGGGAGCACT ta ttacaaccctgcctcaagagtcgagttacatgtcagtacaca cgtctaagaaccagttctccctgaagctgaactctataactgcc gcggacacggcgtgtattactgt GCGAGAGGCAC GTATTCCGATTTTTGGAGTGGTTCC CCTTTAGACTAC tggggccagggaaccctgggtca ccgtctctcag
110	Nucleotit chuỗi nhẹ	gacatccagatgaccagtcctccatcctcactgtctgcattgtga ggagacagagtcaccatcactgtcgggcgagt CAGGG CATTAGCAATTAT ttagcctggttcagcagaaac cagggaagcccctaagtcctgatctat GCTGCATC C agtttgcaaagtgggggtcccatcaagggtcagcggcagtgg atctgggacagatttcactctcaccatcaacagcctgcagcctg aagattttgtaactatttctgc CAACAGTATGATA CTTACCCTCTCACT tcggcgaggaggaccaagg tggagatcaaac
Kháng thể RVC21		
111	Axit amin CDRH1	ggsis n p n y
112	Axit amin CDRH2	iyy n g y t
113	Axit amin CDRH3	atqst m t t i a g h y

114	Axit amin CDRL1	<u>t</u> s nign <u>s</u> y
115	Axit amin CDRL2	dnn
116	Axit amin dài CDRL2	LIY dnn KRP
117	Axit amin CDRL3	g twdss <u>l</u> n ayv
118	Nucleiotit CDRH1	GGTGGCTCCATCAGCAACCCTAACT ACTAC
119	Nucleiotit CDRH2	ATCTATTATAATGGGTACACC
120	Nucleiotit CDRH3	GCGACGCAATCTACGATGACTACCA TAGCGGGCCACTAC
121	Nucleiotit CDRL1	ACATCCAACATTGGGAATTCTTAT
122	Nucleiotit CDRL2	GACAATAAT
123	Nucleotit dài CDRL2	ctcatttat GACAATAAT aagcgaccc
124	Nucleiotit CDRL3	GGAACATGGGACAGCAGCCTGAATG CTTATGTC
125	Axit amin chuỗi nặng	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS ggsisn pnyy WGWIRQPPGKGLEWIGS iiyngyt YY NPSLKSRVTISVD KSKDQF LK MTSL TA ADTAVYY Catqstmttiaghy WGQGTLVTVS S
126	Axit amin chuỗi nhẹ	QSVLTQAPSVSAAPGLKVTISCSGS tsnign sy VSWYQQLPGTAPKLLIY dnn KRPSGIP DRFSGSKSD TSATL GITGLQTGDEADYY Cgtwdsslnayv FGTGTKVTVL
127	Nucleotit chuỗi nặng	cagctgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcct tcggagaccctgtccctcacgtgcactgtctct GGTGGC TCCATCAGCAACCCTAACTACTAC tgg

		ggctggatccgccagccccaggggaagggctctggaatggatt gggagtATCTATTATAATGGGTACACCTa ctacaacccgtccctcaagagtcgagttaccatatccgtggaca agtccaaggaccagttctttctgaagatgacctctctgaccgcc gcagacacggctgtgtattactgtGCGACGCAATC TACGATGACTACCATAGCGGGCCAC TAC tggggccaggaaccctggtcaccgtctcctcag
128	Nucleotit chuỗi nhẹ	cagtctgtattgacgcaggcgcctcagtgctgcggccccag gactaaaggtcaccatctctgctctggaagcACATCCA ACATTGGGAATTCTTAT gtatcctgggtaccag cagctcccaggaacagccccaaactcctcattatGACA ATAAT aagcgaccctcagggtattcctgaccgattctctgg ctccaagtctgacacgtcagccaccctgggcatcaccggactc cagactggggacgaggccgattattactgcGGAACAT GGGACAGCAGCCTGAATGCTTATGT Cttcggaactgggaccaaggtcaccgtcctag
Kháng thể RVC38		
129	Axit amin CDRH1	ggtfssya
130	Axit amin CDRH2	<u>imp</u>mf<u>va</u>a
131	Axit amin CDRH3	argdgynykwyfdl
132	Axit amin CDRL1	q<u>d</u>is<u>n</u>y
133	Axit amin CDRL2	aas
134	Axit amin dài CDRL2	LIY aas TLQ
135	Axit amin CDRL3	qql<u>d</u>tyvalt
136	Nucleiotit CDRH1	ggaggcaccttcagcagctatgcc
137	Nucleiotit CDRH2	atcatgcctatgtttgtggcgga
138	Nucleiotit CDRH3	gcgagaggggatggctacaattacaagtgggtattttgacct

		t
139	Nucleiotit CDRL1	caggacattagtaattat
140	Nucleiotit CDRL2	gctgcatcc
141	Nucleotit dài CDRL2	ctgatctat gctgcatcc cactttgcaa
142	Nucleiotit CDRL3	caacagcttgatacttacgtcgcgctcact
143	Axit amin chuỗi nặng	<u>EVQLVQSGAEVKKPGSSVRV</u> SCKAS ggtf ssyaISWVRQAPGLGLEWMGG impmfva a NYAQNFQGRVT <u>VSVDKSTNT</u> AYMEM <u>H</u> <u>NLRSDDTAMYYC</u> argdgynykwyfdlWGQG TLVTVSS
144	Axit amin chuỗi nhẹ	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITICRAS qdisn yLAWYQQKPGKPPKLLIY aas TLQRGVPS RFSGSGSGSEFTLTISLQPEDFATYYC qq ldtyval tFGGGTKVEIK
145	Nucleotit chuỗi nặng	gaggtgcagctgggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcct gggtcctcggtgagggctcctgcaaggcttct ggaggcacct tcagcagctatgccat cagctgggtgcgacaggcccctggg ctagggcttgagtggatgggaggg atcatgcctatgtttgtgg cggc aaactacgcacagaacttcagggcagagtcacggttt ctgtggacaaatccacgaacaccgcctatatggagatgcacaa cctgagatctgacgacacggccatgtattactgt gcgagaggg gatggctacaattacaagtgggtat tttgacctttggggccag ggaaccctagtcaccgtctcctcag
146	Nucleotit chuỗi nhẹ	gacatccagttgaccagctctccatccttctgtctgcatctgtag gagacagagtcaccatcacttgccgggccagtc aggacatta gtaattat tttagcctggtatcagcaaaaaccagggaagccccc taaactcctgatctat gctgcatcc cactttgcaaaggggggtcc catcaagggtcagtggcagtggtatctgggtcagaattcactctc

		acaatcagcagcctgcagcctgaagatttgaacttattactgt caacagcttgatacttacgtcgcgctcactttcggcggaggg accaaggtggagatcaaac
Kháng thể RVC44		
147	Axit amin CDRH1	gftfssys
148	Axit amin CDRH2	isttgyi
149	Axit amin CDRH3	arrsaialagtqrafdi
150	Axit amin CDRL1	qninny
151	Axit amin CDRL2	aas
152	Axit amin dài CDRL2	LIY aasSLH
153	Axit amin CDRL3	qqsysnpwt
154	Nucleiotit CDRH1	GGCTTCACCTTTAGTAGTTATAGT
155	Nucleiotit CDRH2	ATCAGTACTACTGGTACTTACATA
156	Nucleiotit CDRH3	GCGAGACGGTCGGCCATAGCACTGG CTGGTACGCAGCGTGCTTTTGATAT C
157	Nucleiotit CDRL1	CAGAACATTAACAACATAT
158	Nucleiotit CDRL2	GCTGCATCC
159	Nucleotit dài CDRL2	ctgatctat GCTGCATCC agtttacat
160	Nucleiotit CDRL3	caacagagttacagtaacccttggaag
161	Axit amin chuỗi nặng	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAAS gftfs sysMSWVRQAPGKGLEWVSSisttgyiYYA DSVEGRFSISRDSARSSLFLQMNSLRAED TAVYYC arrsaialagtqrafdi WGPGTNVIVS S

162	Axit amin chuỗi nhẹ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS qnin ny LNWYQQKLGKAPKLLIY aas SLHSGVP SRFSASGSGTDFILTISNLQPEDCATYYC qqsysnpwt FGQGTKVEIK
163	Nucleotit chuỗi nặng	gaggtgcagctggtgcagctctgggggaggcctggtcaagcct gggggggtccctgagactctcctgtgcagcctctGGCTTC ACCTTTAGTAGTTATAGTatgagttgggtcc gccaggctccaggaaggcctggagtgggtctcatccAT CAGTACTACTGGTACTTACATAactacg cagactcagtgaggggccgattctccattccagagacagcgc caggagctctctgtttctgcaaatgaacagcctgagagccgag gacacggctgtctattactgtGCGAGACGGTCGG CCATAGCACTGGCTGGTACGCAGCG TGCTTTTGATATCtggggcccagggacaaacgtc atcgtctcttcag
164	Nucleotit chuỗi nhẹ	gacatccagatgaccagctctccatctccctgtctgcatctgta ggagacagagtcaccatcactgccgggcaagtCAGAA CATTAACAACCTATttaaattggtatcagcagaaact agggaaagcccctaagctcctgatctatGCTGCATCC agttacatagtgggggtcccatcaagggtcagtgccagtggatct gggacagatttcattctgaccatcagtaacttgcaacctgaagat tgtgcaacttactactgtcaacagagttacagtaacccttgga cgttcggccaagggaaccaagggtggaaatcaaac
Kháng thể RVC58		
165	Axit amin CDRH1	gftfstya
166	Axit amin CDRH2	isdr ggsr
167	Axit amin CDRH3	ar diappnyyfygmdv
168	Axit amin CDRL1	ss digafny
169	Axit amin CDRL2	evs

170	Axit amin dài CDRL2	<u>I</u> IYevsNRP
171	Axit amin CDRL3	<u>n</u> sytsstql
172	Nucleiotit CDRH1	GGATTCACCTTTAGCACCTATGCC
173	Nucleiotit CDRH2	ATTAGTGATAGAGGTGGTAGTAGA
174	Nucleiotit CDRH3	GCGAGAGATATTGCCCCCCCATATA ACTACTACTTCTACGGTATGGACGT C
175	Nucleiotit CDRL1	AGCAGTGACATTGGTGCTTTTAACT AT
176	Nucleiotit CDRL2	GAGGTCAGT
177	Nucleotit dài CDRL2	ataatttat GAGGTCAGT aatcgggccc
178	Nucleiotit CDRL3	AACTCATATACAAGCAGCAGCACTC AGTTA
179	Axit amin chuỗi nặng	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS gftfs tya <u>M</u> <u>N</u> WVRQAPGKGLEWVSG isdr <u>ggsr</u> Y YAGSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLR AEDTAVYYC ardi <u>app</u> <u>nyyfy</u> gmdvWGR G TTVTVSS
180	Axit amin chuỗi nhẹ	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT ssdigaf ny VSWYQQHPGKAPKL <u>I</u> IYevsNRPSGVS NRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYY C <u>n</u> sytsstqlFGGGTKLTVL
181	Nucleotit chuỗi nặng	gaggtgcagctggtggagctctgggggaggcttggtacagcct gggggggtccctgagactctcctgtgcggcctct GGATTC ACCTTTAGCACCTATGCC atgaattgggtcc gccaggctccaggaaggggctggagtggtgtcaggt AT

		TAGTGATAGAGGTGGTAGTAGA tactac gcaggctccgtgaagggccggttcaccatctccagagacaatt ccaagaacacgctgtttctgcaaatgaacagcctgagagccga ggacacggccgtatattactgt GCGAGAGATATT GCCCCCCC ATATA ACTACTACTTCTA CGGTATGGACGTC tggggccgagggaccacgg tcaccgtctcctcag
182	Nucleotit chuỗi nhẹ	cagtctgccctgactcagcctgcctccgtgtctgggtctcctgg acagtcgatcaccatctcctgcactggtacc AGCAGTG ACATTGGTGCTTTTA ACTATgtctcttggtac ccaacagcaccaggcaaaagccccaaactcataattat GA GGTCAGT aatcgccctcaggggttctaatacgtctct ggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgggc tccaggctgaggacgaggctgattattactgc AACTCAT ATACAAGCAGCAGCACTCAGTTA ttcg gcggagggaccaagctgaccgtcctag
Kháng thể RVC68		
183	Axit amin CDRH1	ggsise<u>h</u>h
184	Axit amin CDRH2	ifhsgst
185	Axit amin CDRH3	aravstyyyyyidv
186	Axit amin CDRL1	qdis<u>n</u>w
187	Axit amin CDRL2	aas
188	Axit amin dài CDRL2	LIY aas SLQ
189	Axit amin CDRL3	qqak<u>s</u>fplt
190	Nucleiotit CDRH1	GGTGGCTCCATTAGTGAGCACCAC
191	Nucleiotit CDRH2	ATCTTTCACAGTGGGAGTACC
192	Nucleiotit CDRH3	GCGAGAGCGGTGTCTACTTACTACT

		ACTATTACATAGACGTC
193	Nucleiotit CDRL1	CAGGATATTAGCAACTGG
194	Nucleiotit CDRL2	GCTGCGTCC
195	Nucleotit dài CDRL2	ctgatctatGCTGCGTCCagtttgcaa
196	Nucleiotit CDRL3	CAACAGGCTAAGAGTTTCCCTCTTA CT
197	Axit amin chuỗi nặng	QVQLQESGPRLVKPSETLSLTCTFSggsise <u>hh</u> WSWLRQSPGKGLEWIGYifhsgstNYNP SLKSRVNISLDKSKNQFSLKLSSVTAADT AVYFCaravstyyyyyidvWGQGTTVTVSS
198	Axit amin chuỗi nhẹ	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASqdis <u>nw</u> LAWYQQKPGKAPKLLIYaasSLQSGIS SRFSGGGSGTDFTLTISLQPEDFA ^s YYC qqaksfpltfGQGTKLEIK
199	Nucleotit chuỗi nặng	caggtgcagctacaggagtcgggccaagactggtgaagcc ctcgagaccctgtccctcacctgcactttctctGGTGGC TCCATTAGTGAGCACCACTggagctggctcc ggcagtccccaggaaggactggagtggattggatatAT CTTTCACAGTGGGAGTACCaactacaacc ctccctcaagagtcgagtcaacatatcattagacaagtccaaga accagttctccctgaagctgagttctgtgaccgctgcggacacg gccgtgtatttctgtGCGAGAGCGGTGTCTAC TACTACTACTATTACATAGACGTCtg gggccaagggaccacggtcaccgtctcctcag
200	Nucleotit chuỗi nhẹ	gacatccagatgaccagtcctccatcttccgtgtctgcatctgta ggagacagagtcaccatcactgtcgggcgagtCAGGA TATTAGCAACTGGtagcctggatcagcagaaac cagggaagcccctaaactcctgatctatGCTGCGTC

		Cagtttgcaaagtgggatctcatctaggttcagcggcggtggc tctgggacagatttactctcaccatcagcagcctgcagcctga agattttgcaagtactactgt CAACAGGCTAAGA GTTTCCCTCTTACT tttggccaggggaccaagct ggagatcaaac
Kháng thể RVC111		
201	Axit amin CDRH1	GFS<u>F</u>SSY<u>V</u>
202	Axit amin CDRH2	ISYDGSNK
203	Axit amin CDRH3	ARGSGTQTPLFDY
204	Axit amin CDRL1	QSIT<u>S</u>W
205	Axit amin CDRL2	DD<u>S</u>
206	Axit amin dài CDRL2	LIYDD<u>S</u>T<u>L</u>E
207	Axit amin CDRL3	QQY<u>E</u>SYSGT
208	Nucleiotit CDRH1	ggattctccttcagtagctatggt
209	Nucleiotit CDRH2	atatcatatgatggaagtaataaa
210	Nucleiotit CDRH3	gcgagaggggtccggaacccaaactcccccttttgactac
211	Nucleiotit CDRL1	cagagtattactagctgg
212	Nucleiotit CDRL2	gatgactcc
213	Nucleotit dài CDRL2	ctgatctat gatgactcc actttggaa
214	Nucleiotit CDRL3	caacagtatgagagttattcagggacg
215	Axit amin chuỗi nặng	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS GF S <u>FSSY</u> V MYWVRQAPGKGLEWV T <u>I</u> ISYD GSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYC ARGSGTQTPLF DYWGQGT LVTVSS

216	Axit amin chuỗi nhẹ	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAN <u>QSI</u> <u>TSW</u> <u>V</u> AWYQQ <u>MP</u> GRAPKLLIY <u>DD</u> <u>ST</u> LES GVPSRFSGSGSGTEFTLTIISSLPDDFAT YYC <u>QQY</u> <u>ES</u> SGTFGQGTKVEIK
217	Nucleotit chuỗi nặng	caggtgcaactggtggagtctgggggaggcgtggtccagcct gggaggtccctgagactctcctgtgcagcctct ggattctcctt cagtagctatgtt atgtactgggtccgccaggctccaggcaa ggggctggagtgggtgacaattat atcatatgatggaagtaa taa atactacgcagactccgtgaagggccgattcaccatctcc agagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcc tgagagctgaggacacggctgtctattactgt cgagaggggtc cggaacccaaactcccctctttgactact ggggccaggga ccctggtcaccgtctcctcag
218	Nucleotit chuỗi nhẹ	gacatccagatgaccagtcctcctccaccctgtctgcatctgtg ggagacagagtcaccatcacttgccgggccaat cagagtatt actagctgg gtggcctgggtatcagcagatgccaggagagc ccctaaactcctgatctat gatgactcc actttggaaagtgggg tccatcaaggtcagcggcagtggtatctgggacagaattcact ctcaccatcagcagcctgcagcctgatgatttgcaacttattact gccaacagtatgagagttattcagggac ggttcggccaaggg accaaggtggaaatcaaac

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Humabs BioMed SA

<120> KHÁNG THỂ TRUNG HÒA LÂY NHIỄM LYSSAVIRUT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

<130> HB01P014W01

<160> 218

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRH1 RVA122

<400> 1

Gly Asp Ser Met Asn Asn Phe Tyr
1 5

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRH2 RVA122

<400> 2

Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr
1 5

<210> 3

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRH3 RVA122

<400> 3

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

Val

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

<220>
 <223> aa CDRL1 RVA122

<400> 4

Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr
 1 5

<210> 5

<400> 5
 000

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

<220>
 <223> aa dài CDRL2 RVA122

<400> 6

Leu Ile Tyr Lys Ser Asp Lys Arg Pro
 1 5

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

<220>
 <223> aa CDRL3 RVA122

<400> 7

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

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

<220>
 <223> nuc CDRH1 RVA122

<400> 8
 ggtgactcca tgaataattt ctac 24

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

<220>
 <223> nuc CDRH2 RVA122

<400> 9
 atctattaca gtgggaccac c 21

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

<220>
 <223> nuc CDRH3 RVA122

<400> 10
 gcgagagact ccggtgacta cgtcagctac tactattatg gtatggacgt c 51

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

<220>
 <223> nuc CDRL1 RVA122

<400> 11
 agctccaaca tcggaagtaa ttat 24

<210> 12

<400> 12
 000

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

<220>
 <223> nuc dài CDRL2 RVA122

<400> 13
 cttatttaca agagtgataa gcggccc 27

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

<220>
 <223> nuc CDRL3 RVA122

<400> 14
 gcagcatggg ataacaggct gagtggttgg ctc

33

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

<220>
 <223> aa chuỗi nặng RVA122

<400> 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
 <223> aa chuỗi nhẹ RVA122

<400> 16

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
 <223> nuc chuỗi nặng RVA122

<400> 17

caggtgcacc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtcctc 60
 acctgcactg tctctggtga ctccatgaat aatttctact ggggctggat ccggcagccc 120
 gcaggggaagg gactggagtg gattggatat atctattaca gtgggaccac caactacaac 180
 ccctccctca agagtcgagt caccatatca atagacacgt ccaagaacca attctccctg 240
 aaggtgaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt attgtgcgag agactccggt 300

gactacgtca gctactacta ttatggatatg gacgtctggg gcccagggac cacggtcacc 360
gtctcctcag 370

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

<220>
<223> nuc chuỗi nhẹ RVA122

<400> 18
cagtctgtgc tgactcagtc accctcagcg tctgataccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaattatg tgtattggta ccagcagttc 120
ccaggaacgg cccccaaact ccttatctac aagagtgata agcggccctc aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccac gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccgg 240
tccgaagatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggata acaggctgag tggttggctc 300
ttcggcggag ggacgaagct gaccgtccta g 331

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

<220>
<223> Aa CDRH1 RVA144

<400> 19

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

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

<220>
<223> Aa CDRH2 RVA144

<400> 20

Val Tyr Tyr Asn Gly His Thr
1 5

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

<220>
 <223> aa CDRH3 RVA144

<400> 21

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

<210> 22
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa CDRL1 RVA144

<400> 22

Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp
 1 5

<210> 23

<400> 23
 000

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

<220>
 <223> aa dài CDRL2 RVA144

<400> 24

Leu Ile Tyr Gly Asn Thr Lys Arg Pro
 1 5

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

<220>
 <223> aa CDRL3 RVA144

<400> 25

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

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

<220>
 <223> nuc CDRH1 RVA144

<400> 26
 ggtggttcca tcagcagtac tattttctac 30

<210> 27
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc CDRH2 RVA144

<400> 27
 gtctattata atggacacac c 21

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

<220>
 <223> nuc CDRH3 RVA144

<400> 28
 gcgagaccct caacatatga ctacagtatt gggcgc 36

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

<220>
 <223> nuc CDRL1 RVA144

<400> 29
 agctccaaca tcggggcagg ttatgat 27

<210> 30

<400> 30

000

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

<220>
 <223> nuc dài CDRL2 RVA144

<400> 31
 ctcacatctatg gtaacaccaa gcggccc

27

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

<220>
 <223> nuc CDRL3 RVA144

<400> 32
 cagtcctttg acagcagcct gagtgcttgg gta

33

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

<220>
 <223> aa chuỗi nặng RVA144

<400> 33

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

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

<220>
<223> aa chuỗi nhẹ RVA144

<400> 34

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>

<223> nuc chuỗi nặng RVA144

<400> 35

```
cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cctcggagac cctgtccctc      60
acttgactg tctctggtgg ttccatcagc agtactatatt tctactgggg ctggatccgc      120
cagccccag ggaagggact ggagtggatt gggagtgtct attataatgg acacacctac      180
tacaatccgt ccctcaagag tcgagtcgcc atatccattg acaagtccaa gaaccagttc      240
tccctgaggc ttaactctgt gaccgccgcg gacacggctg tatattactg tgcgagaccc      300
tcaacatatg actacagtat tgggcgctgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca      360
g                                                                              361
```

<210> 36

<211> 334

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc chuỗi nhẹ RVA144

<400> 36

```
cagtccgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctcggggcc cagggcagag gggtaccatc      60
tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggttatg atgtccactg gtaccagcaa      120
cttccaggaa cagccccaa actcctcatc tatggtaaca ccaagcggcc ctcaggggtc      180
cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cactgggctc      240
ctgactgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctttg acagcagcct gaggcttgg      300
gtattcggcg gagggaccaa actgaccgtc ctgg                                     334
```

<210> 37

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRH1 RVB185

<400> 37

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

<210> 38

<211> 7

<212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa CDRH2 RVB185

<400> 38

Ile Lys Tyr Ser Gly Ser Thr
 1 5

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

<220>
 <223> aa CDRH3 RVB185

<400> 39

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

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

<220>
 <223> aa CDRL1 RVB185

<400> 40

Arg Ser Asn Ile Gly Ser His Pro
 1 5

<210> 41

<400> 41
 000

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

<220>
 <223> aa dài CDRL2 RVB185

<400> 42

Leu Ile Tyr Gly Asp Ser Gln Arg Pro

1

5

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

<220>
<223> aa CDRL3 RVB185

<400> 43

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

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

<220>
<223> nuc CDRH1 RVB185

<400> 44
ggtgccccg tcagtgggtg taactcctac

30

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

<220>
<223> nuc CDRH2 RVB185

<400> 45
atcaagtaca gtgggagcac c

21

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

<220>
<223> nuc CDRH3 RVB185

<400> 46
gccagacaaa gtactatgac gggccgggac tac

33

<210> 47
<211> 24
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRL1 RVB185

<400> 47

agatccaaca tcggaagcca tcct

24

<210> 48

<400> 48

000

<210> 49

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc dài CDRL2 RVB185

<400> 49

ctcatctatg gtgatagtca gcgaccc

27

<210> 50

<211> 36

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRL3 RVB185

<400> 50

gcagcatggg atgacagcct gagtggcctt tgggtg

36

<210> 51

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa chuỗi nặng RVB185

<400> 51

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

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

<220>
<223> aa chuỗi nhẹ RVB185

<400> 52

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
 <223> nuc chuỗi nặng RVB185

<400> 53
 cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcagtg tctccggtgc ccccgtcagt ggtgttaact cctactgggt gtggatccgc 120
 cagccccccg ggaaggggct ggagtggatt gcgactatca agtacagtgg gagcaccac 180
 cgtagcccgt cgctcaggag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaatcagttc 240
 tccctggagc tgagctctgt gaccgccgct gacacggctg tatattactg tgccagacaa 300
 agtactatga cgggccggga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctcag 358

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

<220>
 <223> nuc chuỗi nhẹ RVB185

<400> 54
 cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
 tcttgttctg gaagcagatc caacatcgga agccatcctg taaactggta ccagcagctc 120
 ccgggagcgg cccccaagct cctcatctat ggtgatagtc agcgaccctc aggggtccct 180
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcccc tcagcctccc tggccatcag tggactccag 240
 tctgaagatg aggctgatta ttactgtgca gcatgggatg acagcctgag tggcctttgg 300
 gtgttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc ctaa 334

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

<220>

<223> aa CDRH1 RVB492

<400> 55

Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 56

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRH2 RVB492

<400> 56

Leu Asn Ser Ile Asp His Arg Thr
1 5

<210> 57

<211> 18

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRH3 RVB492

<400> 57

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

Asp Tyr

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRL1 RVB492

<400> 58

Ser Asn Asp Ile Gly Gly Tyr Asn Tyr
1 5

<210> 59

<400> 59
000

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

<220>
<223> aa dài CDRL2 RVB492

<400> 60

Met Ile Phe Tyr Val Asn Lys Arg Pro
1 5

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

<220>
<223> aa CDRL3 RVB492

<400> 61

Cys Ser Phe Ala Gly Ser Tyr Ser Leu
1 5

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

<220>
<223> nuc CDRH1 RVB492

<400> 62
ggattcagct ttagcagcta tgcc

24

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

<220>
<223> nuc CDRH2 RVB492

<400> 63
cttaattcta ttgatcatag aaca

24

<210> 64

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

<220>
 <223> nuc CDRH3 RVB492

<400> 64
 gctcggggggg tgggactatg gttcgggtgaa ttatcctgga attactttga ctac 54

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

<220>
 <223> nuc CDRL1 RVB492

<400> 65
 agcaatgata ttggtgggta taactat 27

<210> 66

<400> 66
 000

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

<220>
 <223> nuc dài CDRL2 RVB492

<400> 67
 atgatttttt atgtcaataa gcggccc 27

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

<220>
 <223> nuc CDRL3 RVB492

<400> 68
 tgctcatttg caggcagtta ctcctta 27

<210> 69
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa biến thể 1 chuỗi nặng RVB492

<400> 69

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

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

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

Ser Ser Leu Asn Ser Ile Asp His Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

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

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

<210> 70

<211> 125

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa biến thể 2 chuỗi nặng RVB492

<400> 70

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

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

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

Ser Ser Leu Asn Ser Ile Asp His Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

<210> 71

<211> 109

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa chuỗi nhẹ RVB492

<400> 71

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> nuc biến thể 1 chuỗi nặng RVB492

<400> 72
gaggtgcagc tgatggagtc tgggggaggc ctggtacagc cggggggggtc catgagactc 60
tactgtgcag cctctggatt cagctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctcgagtg ggtctcaagt ctttaattcta ttgatcatag aacagactat 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtat 240
ttacaaatgg acagcctgag agtcgaggac tcggccatgt attactgtgc tcgggggggtg 300
ggactatggg tcggtgaatt atcctggaat tactttgact actggggcca gggaaccctg 360
gtcaccgtct cctcag 376

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

<220>
<223> nuc biến thể 2 chuỗi nặng RVB492

<400> 73
gaggtgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ctggtacagc cggggggggtc catgagactc 60
tactgtgcag cctctggatt cagctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctcgagtg ggtctcaagt ctttaattcta ttgatcatag aacagactat 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtat 240
ttacaaatgg acagcctgag agtcgaggac tcggccatgt attactgtgc tcgggggggtg 300
ggactatggg tcggtgaatt atcctggaat tactttgact actggggcca gggaaccctg 360
gtcaccgtct cctcag 376

<210> 74
<211> 328

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc chuỗi nhẹ RVB492

<400> 74

cagtctgccc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60

tcctgcactg gaaccagcaa tgatattggt ggttataact atgtctcctg gtaccaacaa 120

cacccaggca aagcccccaa actcatgatt ttttatgtca ataagcggcc ctcaggggctc 180

cctgatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgacat ctctgggctc 240

caggctgagg atgaagctga ttattactgc tgctcatttg caggcagtta ctccttattc 300

ggcagaggga ccaagctgac cgtcctag 328

<210> 75

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRH1 RVC3

<400> 75

Thr Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Ala
1 5

<210> 76

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRH2 RVC3

<400> 76

Ile Ser Ala Ser Gly Ser Ser Thr
1 5

<210> 77

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRH3 RVC3

<400> 77

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

<210> 78

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRL1 RVC3

<400> 78

Gln	Ser	Val	Asn	Ser	Asn
1			5		

<210> 79

<400> 79

000

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa dài CDRL2 RVC3

<400> 80

Leu	Ile	Tyr	Gly	Ala	Ser	Thr	Arg	Ala
1				5				

<210> 81

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRL3 RVC3

<400> 81

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

<210> 82

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH1 RVC3

<400> 82

acattcacgt ttagaaacta tgcc

24

<210> 83

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH2 RVC3

<400> 83

attagtgcata gtggtagtag cacg

24

<210> 84

<211> 48

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH3 RVC3

<400> 84

gcgaaatttg ctcacgattt ttggagtggt tattcttact ttgactcc

48

<210> 85

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRL1 RVC3

<400> 85

cagagtgtta acagcaac

18

<210> 86

<400> 86

000

<210> 87

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc dài CDRL2 RVC3

<400> 87

ctcatctatg gtgcatccac cagggcc

27

<210> 88

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRL3 RVC3

<400> 88

cagcagtata ataattgggt ttcgatcacc

30

<210> 89

<211> 123

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa chuỗi nặng RVC3

<400> 89

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> aa chuỗi nhẹ RVC3

<400> 90

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> nuc chuỗi nặng RVC3

<400> 91

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ctggtgcagc cggggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctacatt cacgtttaga aactatgcc a tgcctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggactg ggtctcaggg attagtgcta gtggtagtag cacgaattat 180

gcagcctccc tgaagggccg atttaccatc tccagagaca attccaagaa cacattgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtct attactgtgc gaaatttgct 300
 cacgattttt ggagtgggta ttcttacttt gactcctggg gccaggggaac cctggtcacc 360
 gtctcctcag 370

<210> 92
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc chuỗi nhẹ RVC3

<400> 92
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccgggtca gagtgttaac agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120
 gggcaggctc ccagactcct catctatggg gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataatt gggtttcgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaac 325

<210> 93
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa CDRH1 RVC20

<400> 93

Gly Gly Ser Phe Ser Ser Gly Ser Tyr Ser
 1 5 10

<210> 94
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa CDRH2 RVC20

<400> 94

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 95
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH3 RVC20

<400> 95

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

<210> 96
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRL1 RVC20

<400> 96

Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 97

<400> 97
000

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa dài CDRL2 RVC20

<400> 98

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln
1 5

<210> 99
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRL3 RVC20

<400> 99

Gln Gln Tyr Asp Thr Tyr Pro Leu Thr
 1 5

<210> 100

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH1 RVC20

<400> 100

ggtggctcct tcagcagtgg aagttactcc

30

<210> 101

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH2 RVC20

<400> 101

atctattaca gtgggagcac t

21

<210> 102

<211> 48

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH3 RVC20

<400> 102

gcgagaggca cgtattccga tttttggagt ggttccccctt tagactac

48

<210> 103

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRL1 RVC20

<400> 103

cagggcatta gcaattat

18

<210> 104

<400> 104
000

<210> 105
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc dài CDRL2 RVC20

<400> 105
ctgatctatg ctgcatccag ttgcaa

27

<210> 106
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc CDRL3 RVC20

<400> 106
caacagtatg atacttaccc tctcact

27

<210> 107
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa chuỗi nặng RVC20

<400> 107

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

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

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

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

Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val His Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Asn Ser Ile Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

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

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

<210> 108

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa chuỗi nhẹ RVC20

<400> 108

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

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

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

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

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

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

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

<210> 109

<211> 373

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc chuỗi nặng RVC20

<400> 109

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc	60
acctgcactg tctccggtgg ctcttcagc agtggaagtt actcctggaa ctggatccgc	120
cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcacttat	180
tacaaccgt ccctcaagag tcgagttacc atgtcagtac acacgtctaa gaaccagttc	240
tccctgaagc tgaactctat aactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagaggc	300
acgtattccg atttttggag tggttcccct ttagactact ggggccaggg aaccctggtc	360
accgtctcct cag	373

<210> 110

<211> 322

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc chuỗi nhẹ RVC20

<400> 110

gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgtc gggcgagtca gggcattagc aattatttag cctgggttca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaacag cctgcagcct	240
gaagattttg taacttattt ctgccaacag tatgatactt accctctcac tttcggcgga	300
gggaccaagg tggagatcaa ac	322

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRH1 RVC21

<400> 111

Gly Gly Ser Ile Ser Asn Pro Asn Tyr Tyr

1 5 10

174

<210> 112
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH2 RVC21

<400> 112

Ile Tyr Tyr Asn Gly Tyr Thr
1 5

<210> 113
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH3 RVC21

<400> 113

Ala Thr Gln Ser Thr Met Thr Thr Ile Ala Gly His Tyr
1 5 10

<210> 114
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRL1 RVC21

<400> 114

Thr Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr
1 5

<210> 115

<400> 115
000

<210> 116
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa dài CDRL2 RVC21

<400> 116

Leu Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro
1 5

<210> 117

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRL3 RVC21

<400> 117

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

<210> 118

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH1 RVC21

<400> 118

ggtggctcca tcagcaaccc taactactac

30

<210> 119

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH2 RVC21

<400> 119

atctattata atgggtacac c

21

<210> 120

<211> 39

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH3 RVC21

<400> 120

gcgacgcaat ctacgatgac taccatagcg ggccactac

39

<210> 121
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc CDRL1 RVC21

<400> 121
 acatccaaca ttgggaattc ttat

24

<210> 122

<400> 122
 000

<210> 123
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc dài CDRL2 RVC21

<400> 123
 ctcatttatg acaataataa gcgaccc

27

<210> 124
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc CDRL3 RVC21

<400> 124
 ggaacatggg acagcagcct gaatgcttat gtc

33

<210> 125
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa chuỗi nặng RVC21

<400> 125

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

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

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

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

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

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

Cys Ala Thr Gln Ser Thr Met Thr Thr Ile Ala Gly His Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 126

<211> 110

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa chuỗi nhẹ RVC21

<400> 126

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

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

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

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

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

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

Asn Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 127
<211> 364
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc chuỗi nặng RVC21

<400> 127
cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acgtgcactg tctctggtgg ctccatcagc aaccctaact actactgggg ctggatccgc 120
cagccccag ggaagggctct ggaatggatt gggagtatct attataatgg gtacacctac 180
tacaaccgt ccctcaagag tcgagttacc atatccgtgg acaagtcaa ggaccagttc 240
tttctgaaga tgacctctct gaccgccgca gacacggctg tgtattactg tgcgacgcaa 300
tctacgatga ctaccatagc gggccactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tcag 364

<210> 128
<211> 331
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc chuỗi nhẹ RVC21

<400> 128
cagtctgtat tgacgcaggc gccctcagtg tctgcggccc caggactaaa ggtcaccatc 60
tcctgctctg gaagcacatc caacattggg aattcttatg tctcctggta ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctgacacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca gcagcctgaa tgcttatgtc 300
ttcgggaactg ggaccaaggt caccgtccta g 331

<210> 129
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH1 RVC38

<400> 129

Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 130
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH2 RVC38

<400> 130

Ile Met Pro Met Phe Val Ala Ala
1 5

<210> 131
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH3 RVC38

<400> 131

Ala Arg Gly Asp Gly Tyr Asn Tyr Lys Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 132
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRL1 RVC38

<400> 132

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 133

<400> 133
000

<210> 134

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa dài CDRL2 RVC38

<400> 134

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln
1 5

<210> 135

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRL3 RVC38

<400> 135

Gln Gln Leu Asp Thr Tyr Val Ala Leu Thr
1 5 10

<210> 136

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH1 RVC38

<400> 136

ggaggcacct tcagcagcta tgcc

24

<210> 137

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH2 RVC38

<400> 137

atcatgccta tgtttgtggc ggca

24

<210> 138
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc CDRH3 RVC38

<400> 138
gcgagagggg atggctacaa ttacaagtgg tatTTtgacc tt

42

<210> 139
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc CDRL1 RVC38

<400> 139
caggacatta gtaattat

18

<210> 140

<400> 140
000

<210> 141
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc dài CDRL2 RVC38

<400> 141
ctgatctatg ctgcatccac tttgcaa

27

<210> 142
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc CDRL3 RVC38

<400> 142
caacagcttg atacttacgt cgcgctcact

30

<210> 143
<211> 121

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa chuỗi nặng RVC38

<400> 143

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

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

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

Gly Gly Ile Met Pro Met Phe Val Ala Ala Asn Tyr Ala Gln Asn Phe
 50 55 60

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

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 144

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa chuỗi nhẹ RVC38

<400> 144

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

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

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

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

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

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

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

<210> 145
 <211> 364
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc chuỗi nặng RVC38

<400> 145
 gaggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgagggtc 60
 tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcca tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctgggctag ggcttgagtg gatgggaggg atcatgccta tgtttgtggc ggcaaactac 180
 gcacagaact tccagggcag agtcacggtt tctgtggaca aatccacgaa caccgcctat 240
 atggagatgc acaacctgag atctgacgac acggccatgt attactgtgc gagaggggat 300
 ggctacaatt acaagtggta ttttgacctt tggggccagg gaaccctagt caccgtctcc 360
 tcag 364

<210> 146
 <211> 325
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc chuỗi nhẹ RVC38

<400> 146
 gacatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca ggacattagt aattatttag cctggtatca gcaaaaacca 120
gggaagcccc ctaaactcct gatctatgct gcatccactt tgcaaagggg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggtcagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag cttgatactt acgtcgcgct cactttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaac 325

<210> 147
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH1 RVC44

<400> 147

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser
1 5

<210> 148
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH2 RVC44

<400> 148

Ile Ser Thr Thr Gly Thr Tyr Ile
1 5

<210> 149
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH3 RVC44

<400> 149

Ala Arg Arg Ser Ala Ile Ala Leu Ala Gly Thr Gln Arg Ala Phe Asp
1 5 10 15

Ile

<210> 150
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRL1 RVC44

<400> 150

Gln Asn Ile Asn Asn Tyr
1 5

<210> 151

<400> 151
000

<210> 152
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa dài CDRL2 RVC44

<400> 152

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu His
1 5

<210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRL3 RVC44

<400> 153

Gln Gln Ser Tyr Ser Asn Pro Trp Thr
1 5

<210> 154
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc CDRH1 RVC44

<400> 154
ggcttcacct ttagtagtta tagt 24

<210> 155
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc CDRH2 RVC44

<400> 155
atcagtacta ctggtactta cata 24

<210> 156
<211> 51
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc CDRH3 RVC44

<400> 156
gcgagacggg cggccatagc actggctggg acgcagcgtg cttttgatat c 51

<210> 157
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc CDRL1 RVC44

<400> 157
cagaacatta acaactat 18

<210> 158

<400> 158
000

<210> 159
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc dài CDRL2 RVC44

<400> 159
ctgatctatg ctgcatccag ttacat 27

<210> 160
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc CDRL3 RVC44

<400> 160
 caacagagtt acagtaaccc ttggacg

27

<210> 161
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa chuỗi nặng RVC44

<400> 161

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Arg Ser Ala Ile Ala Leu Ala Gly Thr Gln Arg Ala Phe Asp
 100 105 110

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

<210> 162
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa chuỗi nhẹ RVC44

<400> 162

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

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

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

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

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

Glu Asp Cys Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Asn Pro Trp
 85 90 95

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

<210> 163
 <211> 373
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc chuỗi nặng RVC44

<400> 163

gaggtgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggctt caccttttagt agttatagta tgagttgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg gcctggagtg ggtctcatcc atcagtacta ctggtactta catatactac 180
 gcagactcag tggagggccg attctccatt tccagagaca gcgccaggag ctctctgttt 240
 ctgcaaata acagcctgag agccgaggac acggctgtct attactgtgc gagacggtcg 300

gccatagcac tggctggtac gcagcgtgct tttgatatct ggggccagg gacaaacgtc 360
atcgtctctt cag 373

<210> 164
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc chuỗi nhẹ RVC44

<400> 164
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gaacattaac aactatttaa attggtatca gcagaaacta 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tacatagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg ccagtggatc tgggacagat ttcattctga ccatcagtaa tctgcaacct 240
gaagattgtg caacttacta ctgtcaacag agttacagta acccttggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa ac 322

<210> 165
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH1 RVC58

<400> 165

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala
1 5

<210> 166
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH2 RVC58

<400> 166

Ile Ser Asp Arg Gly Gly Ser Arg
1 5

<210> 167
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa CDRH3 RVC58

<400> 167

Ala	Arg	Asp	Ile	Ala	Pro	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Tyr	Phe	Tyr	Gly	Met	Asp
1				5					10					15	

Val

<210> 168
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa CDRL1 RVC58

<400> 168

Ser	Ser	Asp	Ile	Gly	Ala	Phe	Asn	Tyr
1				5				

<210> 169

<400> 169
 000

<210> 170
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa dài CDRL2 RVC58

<400> 170

Ile	Ile	Tyr	Glu	Val	Ser	Asn	Arg	Pro
1				5				

<210> 171
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRL3 RVC58

<400> 171

Asn Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Gln Leu
 1 5 10

<210> 172

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH1 RVC58

<400> 172

ggattcacct ttagcaccta tgcc

24

<210> 173

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH2 RVC58

<400> 173

attagtgata gaggtggtag taga

24

<210> 174

<211> 51

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH3 RVC58

<400> 174

gcgagagata ttgccccccc atataactac tactttctacg gtatggacgt c

51

<210> 175

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRL1 RVC58

<400> 175

agcagtgaca ttggtgcttt taactat

27

<210> 176

<400> 176
000

<210> 177
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc dài CDRL2 RVC58

<400> 177
ataatttatg aggtcagtaa tcggccc

27

<210> 178
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> nuc CDRL3 RVC58

<400> 178
aactcatata caagcagcag cactcagtta

30

<210> 179
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa chuỗi nặng RVC58

<400> 179

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Ile Ala Pro Pro Tyr Asn Tyr Tyr Phe Tyr Gly Met Asp
100 105 110

Val Trp Gly Arg Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 180

<211> 110

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa chuỗi nhẹ RVC58

<400> 180

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Ala Phe
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 181

<211> 373

<212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc chuỗi nặng RVC58

<400> 181
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcgg cctctggatt cacctttagc acctatgcc a tgaattgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attagtgata gaggtggtag tagatactac 180
 gcaggctccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
 ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gagagatatt 300
 gcccccccat ataactacta cttctacggt atggacgtct ggggccgagg gaccacggtc 360
 accgtctcct cag 373

<210> 182
 <211> 331
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc chuỗi nhẹ RVC58

<400> 182
 cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60
 tcctgcactg gtaccagcag tgacattgggt gcttttaact atgtctcttg gtaccaacag 120
 caccaggca aagcccccaa actcataatt tatgaggta gtaatcggcc ctcaggggtt 180
 tctaatacgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgaccat ctctgggctc 240
 caggctgagg acgaggctga ttattactgc aactcatata caagcagcag cactcagtta 300
 ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta g 331

<210> 183
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa CDRH1 RVC68

<400> 183

Gly Gly Ser Ile Ser Glu His His
 1 5

<210> 184
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH2 RVC68

<400> 184

Ile Phe His Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 185
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH3 RVC68

<400> 185

Ala Arg Ala Val Ser Thr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Ile Asp Val
1 5 10

<210> 186
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRL1 RVC68

<400> 186

Gln Asp Ile Ser Asn Trp
1 5

<210> 187

<400> 187
000

<210> 188
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa dài CDRL2 RVC68

<400> 188

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln
1 5

<210> 189

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRL3 RVC68

<400> 189

Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 190

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH1 RVC68

<400> 190

ggtggctcca ttagtgagca ccac

24

<210> 191

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH2 RVC68

<400> 191

atctttcaca gtgggagtac c

21

<210> 192

<211> 42

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH3 RVC68

<400> 192

gcgagagcgg tgtctactta ctactactat tacatagacg tc

42

<210> 193
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc CDRL1 RVC68

<400> 193
 caggatatta gcaactgg

18

<210> 194

<400> 194
 000

<210> 195
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc dài CDRL2 RVC68

<400> 195
 ctgatctatg ctgcgtccag tttgcaa

27

<210> 196
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc CDRL3 RVC68

<400> 196
 caacaggcta agagtttccc tcttact

27

<210> 197
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> aa chuỗi nặng RVC68

<400> 197

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Gly Ser Ile Ser Glu His
20 25 30

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

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

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

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

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 198

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa chuỗi nhẹ RVC68

<400> 198

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

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

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Ile Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

200

<210> 201
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH1 RVC111

<400> 201

Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Val
1 5

<210> 202
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH2 RVC111

<400> 202

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 203
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRH3 RVC111

<400> 203

Ala Arg Gly Ser Gly Thr Gln Thr Pro Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 204
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> aa CDRL1 RVC111

<400> 204

Gln Ser Ile Thr Ser Trp
1 5

<210> 205

<400> 205
000

<210> 206

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa dài CDRL2 RVC111

<400> 206

Leu Ile Tyr Asp Asp Ser Thr Leu Glu
1 5

<210> 207

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa CDRL3 RVC111

<400> 207

Gln Gln Tyr Glu Ser Tyr Ser Gly Thr
1 5

<210> 208

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH1 RVC111

<400> 208

ggattctcct tcagtagcta tggt

24

<210> 209

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc CDRH2 RVC111

<400> 209

atatcatatg atggaagtaa taaa

24

<210> 210
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc CDRH3 RVC111

<400> 210
 gcgagagggt ccggaaccca aactcccctc ttgactac

39

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

<220>
 <223> nuc CDRL1 RVC111

<400> 211
 cagagtatta ctagctgg

18

<210> 212

<400> 212
 000

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

<220>
 <223> nuc dài CDRL2 RVC111

<400> 213
 ctgatctatg atgactccac tttggaa

27

<210> 214
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> nuc CDRL3 RVC111

<400> 214
 caacagtatg agagttattc agggacg

27

<210> 215
 <211> 120

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa chuỗi nặng RVC111

<400> 215

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 216

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> aa chuỗi nhẹ RVC111

<400> 216

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

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

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

Tyr Asp Asp Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 217

<211> 361

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc chuỗi nặng RVC111

<400> 217

caggtgcaac tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt ctccttcagt agctatgtta tgtactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacaatt atatcatatg atggaagtaa taaatactac 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agctgaggac acggctgtct attactgtgc gagagggtcc 300
ggaacccaaa ctcccctctt tgactactgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360
g 361

<210> 218

<211> 322

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> nuc chuỗi nhẹ RVC111

<400> 218

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccaatca gagtattact agctgggtgg cctggtatca gcagatgcca	120
gggagagccc ctaaactcct gatctatgat gactccactt tggaaagtgg ggtcccatca	180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tatgagagtt attcagggac gttcggccaa	300
gggaccaagg tggaaatcaa ac	322

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể được phân lập, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm lyssavirut, trong đó kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ như lần lượt được nêu trong SEQ ID NO: 93-95, 96, 97, và 99, hoặc lần lượt trong SEQ ID NO: 93-95, 96, 98, và 99, và trong đó kháng thể bao gồm trình tự axit amin tương ứng với lớp kháng thể IgG1, IgG2, hoặc IgG4 của người.

2. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 80% độ tương đồng trình tự với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:107 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 80% độ tương đồng trình tự với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108, miễn là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ như lần lượt được nêu trong SEQ ID NO: SEQ ID NO: 93-95, 96, 97, và 99, hoặc lần lượt trong SEQ ID NO: 93-95, 96, 98, và 99.

3. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 90% độ tương đồng trình tự với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:107 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 90% độ tương đồng trình tự với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108, miễn là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ như lần lượt được nêu trong SEQ ID NO: SEQ ID NO: 93-95, 96, 97, và 99, hoặc lần lượt trong SEQ ID NO: 93-95, 96, 98, và 99.

4. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 95% độ tương đồng trình tự với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:107 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 95% độ tương đồng trình tự với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108, miễn là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin

CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ như lần lượt được nêu trong SEQ ID NO: SEQ ID NO: 93-95, 96, 97, và 99, hoặc lần lượt trong SEQ ID NO: 93-95, 96, 98, và 99.

5. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 97% độ tương đồng trình tự với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:107 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 97% độ tương đồng trình tự với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108, miễn là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ như lần lượt được nêu trong SEQ ID NO: SEQ ID NO: 93-95, 96, 97, và 99, hoặc lần lượt trong SEQ ID NO: 93-95, 96, 98, và 99.

6. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 99% độ tương đồng trình tự với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:107 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 99% độ tương đồng trình tự với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108, miễn là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ như lần lượt được nêu trong SEQ ID NO: SEQ ID NO: 93-95, 96, 97, và 99, hoặc lần lượt trong SEQ ID NO: 93-95, 96, 98, và 99.

7. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:107 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 108.

8. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, khác biệt ở chỗ kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên là kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên.

9. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên trung hòa lây nhiễm bởi RABV CVS-11 với giá trị IC_{90} là 400 ng/ml hoặc nhỏ hơn.

10. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên là theo gRVC20.

11. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên là RVC20.

12. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên là kháng thể người, kháng thể đơn dòng, kháng thể đơn dòng người, kháng thể đã tinh sạch, kháng thể đơn chuỗi, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv hoặc scFv.

13. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên trung hòa lây nhiễm lyssavirus bởi (i) RABV và (ii) ít nhất 50% của tất cả các chủng lyssavirus không phải RABV được chọn từ nhóm chỉ bao gồm ABLV/Úc/doi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 lyssavirus doi Bokeloh /BBLV, 86132SA /DUVV, DUVV/ Nam Phi/con người/96132SA-1971/ RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/doi/ 122938-2002/V3951 -2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/doi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/UK/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2, 02053/EBLV-2, 8619/LBV, MOK/MOK, Virut doi Shimoni/SHIV, Virut doi Cap-ca phương Tây/WCBV, lyssavirus doi Úc/RV634/ABLV, Virut Aravan/ARAV, Virut Duvenhage RSA2006/DUVV, Virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, lyssavirus doi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, lyssavirus doi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/doi/ 122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/ UK/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, lyssavirus doi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, lyssavirus doi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut/IRKV, Virut Khujand/KHUV, 8619/LBV, Virut doi Lagos NIG56-RV1/LBV, Virut doi Lagos SA2004/LBV, Virut Mokola NIG68.RV4/MOK, Virut Mokola 98/071 RA36/MOK và lyssavirus Ikoma /IKOV với giá trị IC₅₀ nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với ABLV/Úc/doi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 lyssavirus doi Bokeloh /BBLV, 86132SA /DUVV, DUVV/ Nam Phi/con người/96132SA-1971/ RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/doi/ 122938-2002/V3951 -2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/doi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/Anh/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2, 02053/EBLV-2, 8619/LBV, MOK/MOK được thử nghiệm dưới dạng virus lây nhiễm và với giá trị IC₉₀ nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với Virut doi Shimoni/SHIV, Virut doi Cap-ca phương Tây/WCBV, lyssavirus doi Úc/RV634/ABLV, Virut Aravan/ARAV, Virut Duvenhage RSA2006/DUVV, Virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, lyssavirus doi châu Âu

1.RV20/EBLV-1, lyssavirus doi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/doi/ 122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/ Anh/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, lyssavirus doi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, lyssavirus doi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut/IRKV, Virut Khujand/KHUV, 8619/LBV, Virut doi Lagos NIG56-RV1/LBV, Virut doi Lagos SA2004/LBV, Virut Mokola NIG68.RV4/MOK, Virut Mokola 98/071 RA36/MOK và lyssavirus Ikoma /IKOV được thử nghiệm dưới dạng virus kiểu giả.

14. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên trung hòa lây nhiễm lyssavirus bởi ít nhất 70% lyssavirus không phải RABV nhóm loài I được chọn từ nhóm chỉ bao gồm DUVV, EBLV-1, EBLV-2, ABLV, IRKV, KHUV, và ARAV, với giá trị IC₅₀ nhỏ hơn 10000 ng/ml.

15. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên trung hòa lây nhiễm lyssavirus bởi ít nhất 70% các chủng lyssavirus không phải RABV nhóm loài I được chọn từ nhóm chỉ bao gồm ABLV/Úc/doi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 lyssavirus doi Bokeloh /BBLV, 86132SA /DUVV, DUVV/ Nam Phi/con người/96132SA-1971/ RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/doi/ 122938-2002/V3951 -2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/doi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/Anh/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2, 02053/EBLV-2, lyssavirus doi Úc/RV634/ABLV, Virut Aravan/ARAV, Virut Duvenhage RSA2006/DUVV, Virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, lyssavirus doi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, lyssavirus doi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/doi/ 122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/ Anh/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, lyssavirus doi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2 và lyssavirus doi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut/IRKV, Virut Khujand/KHUV, có IC₅₀ nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với ABLV/Úc/doi/9810AUS-1998/V1039-2011/ABLV, 98010/ABLV, 1301 lyssavirus doi Bokeloh /BBLV, 86132SA /DUVV, DUVV/ Nam Phi/con người/96132SA-1971/ RS639-2012/DUVV, EBLV1a/Pháp/doi/ 122938-2002/V3951 -2009/EBLV-1, EBLV1b/Pháp/doi/8918-1989/EBLV-1, EBLV2/Anh/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, 94112/EBLV-2 và 02053/EBLV-2, được thử nghiệm dưới dạng virus lây nhiễm và với giá trị IC₉₀ nhỏ hơn 10000 ng/ml đối với lyssavirus doi

Úc/RV634/ABLV, Virut Aravan/ARAV, Virut Duvenhage RSA2006/DUVV, Virut Duvenhage ZIM86-RV 131/DUVV, lyssavirut doi châu Âu 1.RV20/EBLV-1, lyssavirut doi châu Âu 1.RV9/EBLV-1, EBLV 1a/Pháp/doi/ 122938-2002/V3951-2009/EBLV-1, EBLV2/ Anh/doi/RV1332-2002/V3951-2009/EBLV-2, lyssavirut doi châu Âu 2.RV1787/EBLV-2, lyssavirut doi châu Âu 2.RV628/EBLV-2, Virut Irkut/IRKV và Virut Khujand/KHUV được thử nghiệm dưới dạng virut kiểu giả.

16. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên trung hòa lây nhiễm bởi EBLV-1.

17. Dược phẩm chứa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, và tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

18. Dược phẩm theo điểm 17, chứa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên khác, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên khác bao gồm các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ như lần lượt được nêu trong SEQ ID NO: 165-169 và 171, hoặc lần lượt trong SEQ ID NO: 165-168 và 170-171.

19. Dược phẩm theo điểm 18, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên khác bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 179 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 180.

20. Thuốc chứa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 16.

21. Kháng thể được phân lập, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trung hòa lây nhiễm lyssavirut, trong đó kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm các trình tự axit amin CDRH1, CDRH2, và CDRH3 chuỗi nặng và các trình tự axit amin CDRL1, CDRL2, và CDRL3 chuỗi nhẹ như lần lượt được nêu trong SEQ ID NO: 93-95, 96, 97, và 99, hoặc lần lượt trong SEQ ID NO: 93-95, 96, 98, và 99, và trong đó kháng thể bao gồm trình tự axit amin tương ứng với lớp kháng thể IgG1, IgG2, hoặc IgG4 của người để sử dụng làm thuốc kháng virut để ngăn ngừa và/hoặc điều trị lây nhiễm RABV và/hoặc lyssavirut không phải RABV ở đối tượng.

1/34

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

Fig. 1

2/34

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

Fig. 1 (tiếp)

3/34

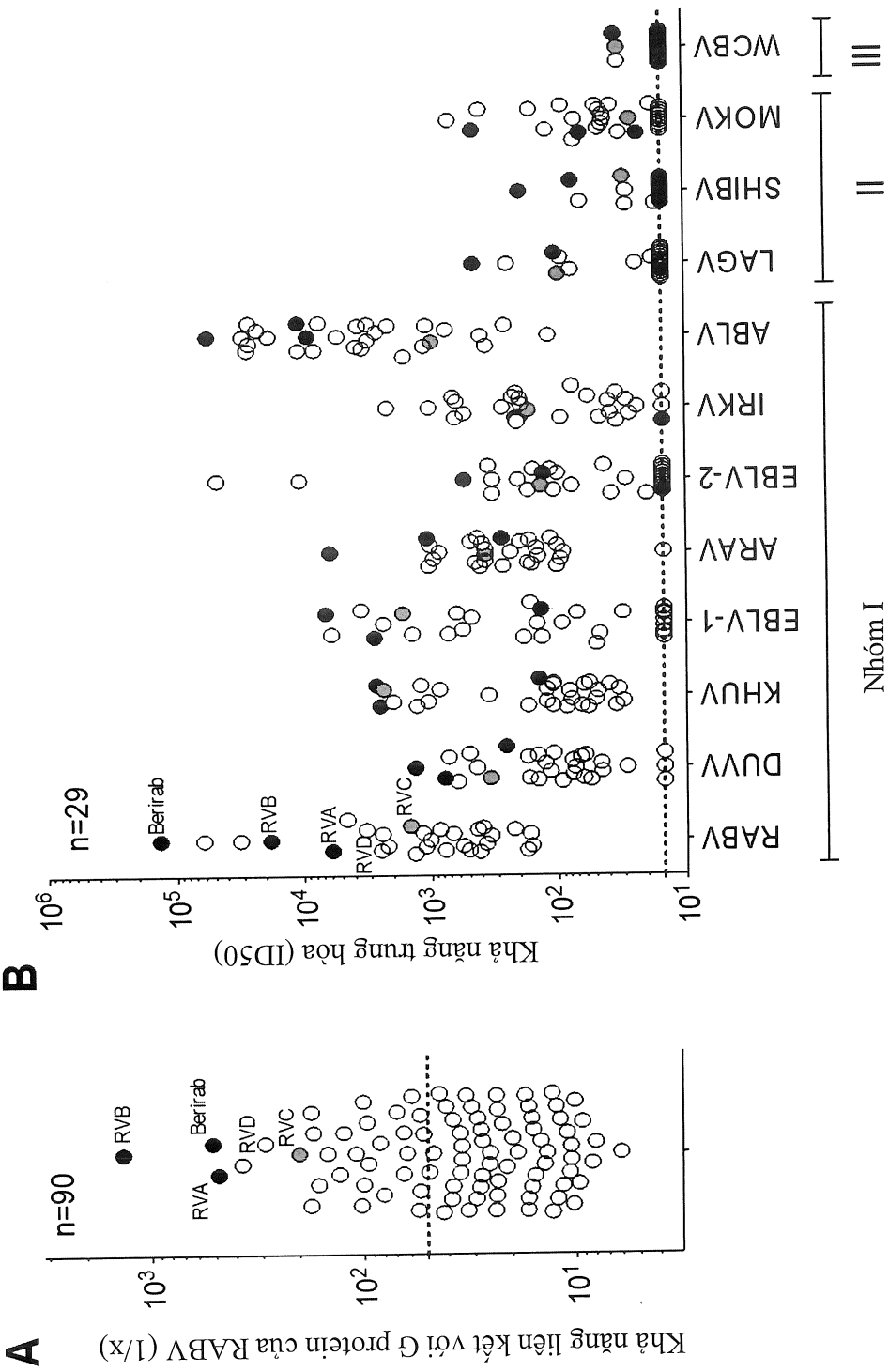


Fig. 2

4/34

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

Fig. 3

5/34

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

Fig. 4

6/34

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

Fig. 5

Fig. 6

		I		III							III.2			B	C		
		RVC3	RVC20	CR57	RVA122	RVA144	RVB492	RVC38	RVC58	CR4098	RAB1	RVC21	RVB185	RVC111	RVC44		RVC68
RABV	V6155	318	234	648	17	39	30	19	21	-	484	45	160	2513	153	-	5075
	BW/badger Niger/Dog	36	46	7	40	98	30	28	21	27	13	31	35	934	232	2958	nd
DUVV	919	27	515	515	18	57	29	28	21	4593	nd	41	34	934	376	7604	nd
	9704	83	83	63	6	83	83	9	6	83	5	71	71	1285	63	214	9211
EBLV-1	86132SA	63	83	5900	80	250	21	21	60	-	nd	21	210	30	-	2000	-
	RS639	nd	-	-	nd	nd	nd	nd	415	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-
EBLV-2	8918	-	83	-	0.5	29	20	15	21	-	-	229	18	7947	3435	-	-
	122938	105	569	-	46	460	850	909	815	-	nd	372	349	-	5960	-	-
ABLV	02053	206	33	21	1750	5200	-	5900	250	21	nd	5900	-	29	750	30	21
	94112	0.5	1562	28	-	-	-	-	500	28	nd	-	-	30	1080	200	0.5
BBLV	RV1332	nd	29	1888	nd	nd	nd	nd	66	-	-	nd	nd	nd	nd	nd	33685
	98010	-	-	-	-	-	2000	200	800	-	-	-	-	-	700	-	-
LBV	V1039	36	397	875	18	43	30	28	21	96	nd	31	34	2115	394	-	-
	1301	nd	22	54	nd	nd	nd	nd	24	-	309	nd	nd	nd	nd	nd	-
MOKV	8619	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	210	588	-
	(chúng?)	200	7	-	-	-	-	-	-	-	nd	-	-	24	-	-	-

8/34

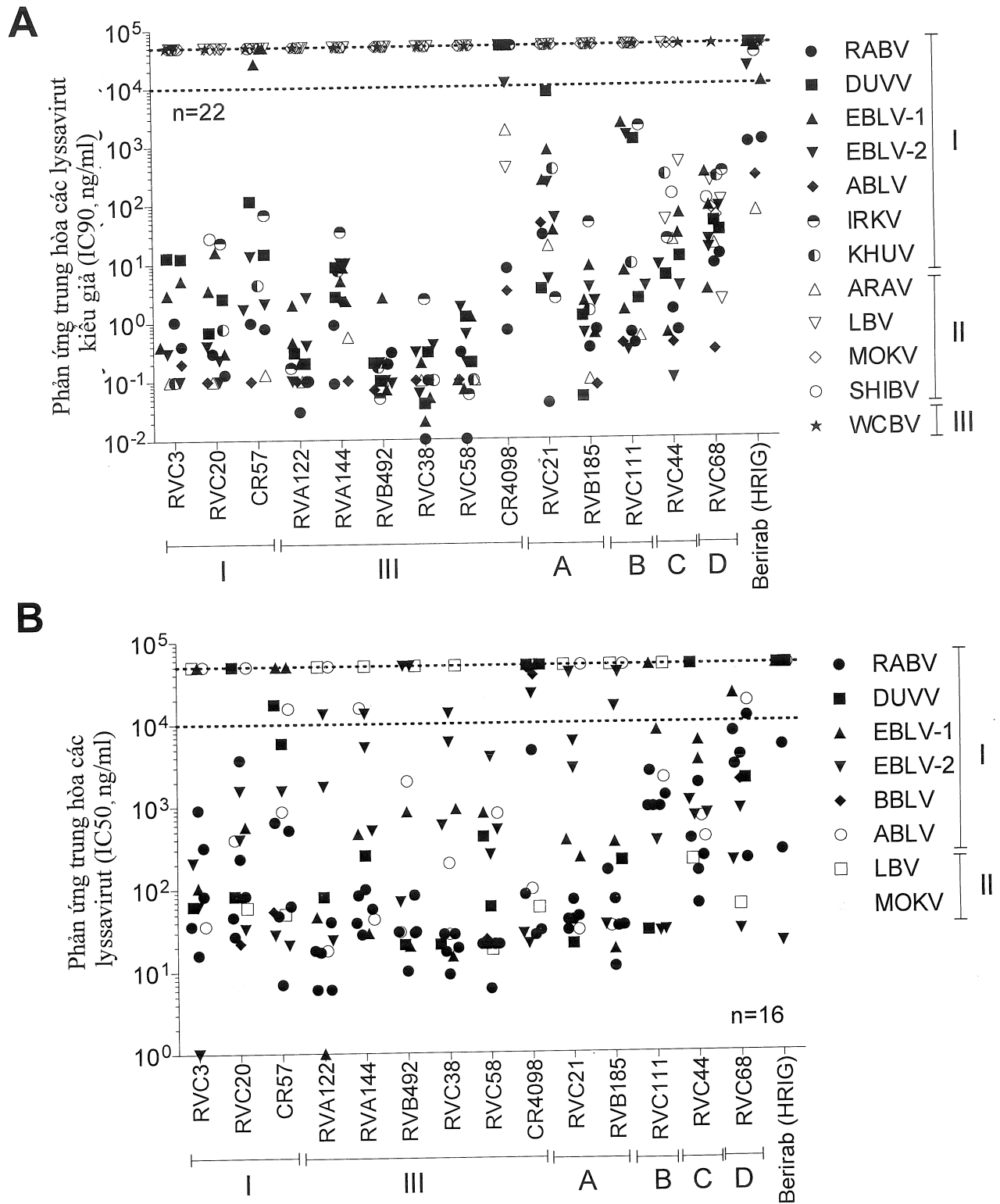


Fig. 7

9/34

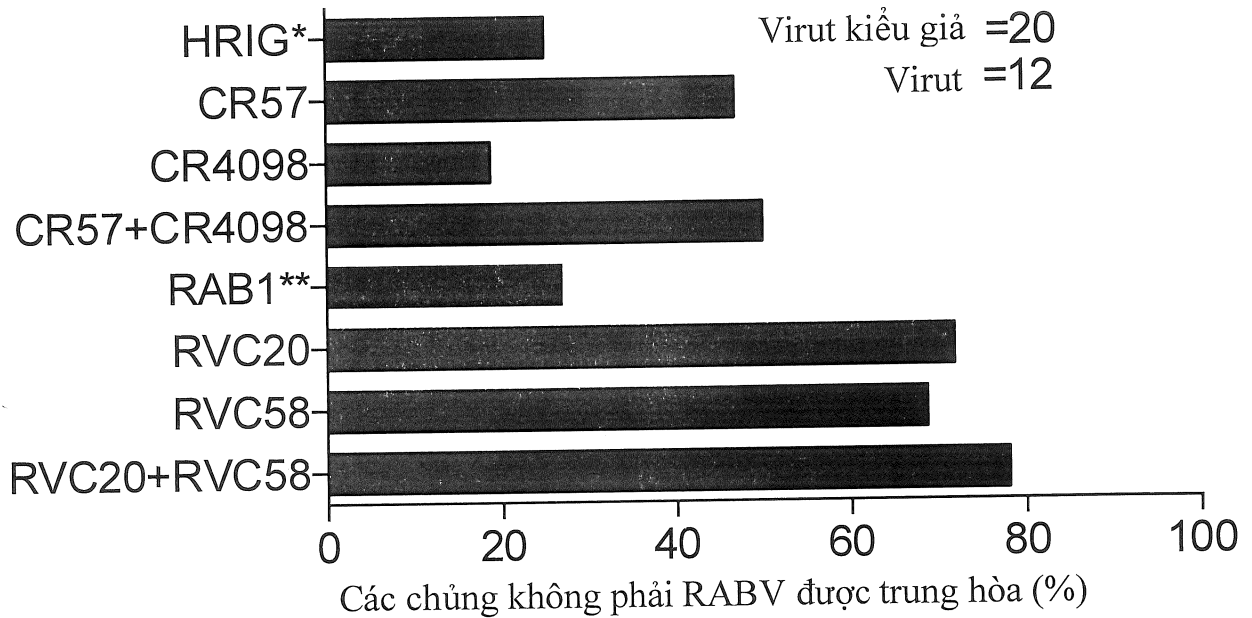
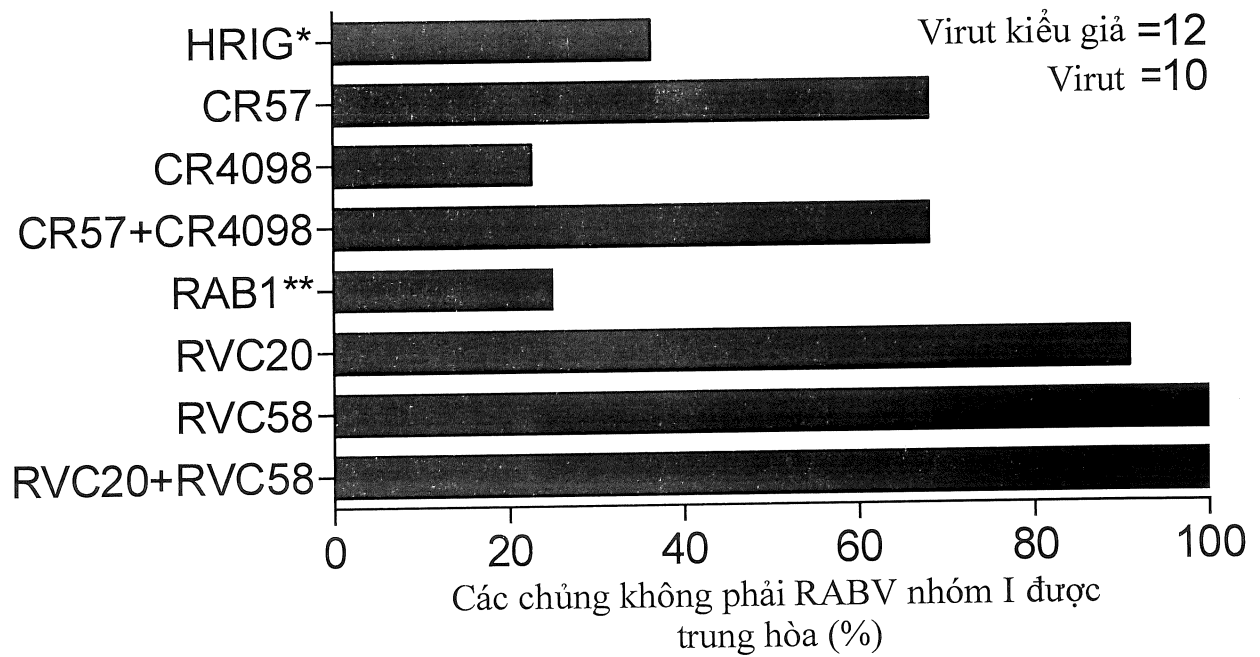
A**B**

Fig. 8

10/34

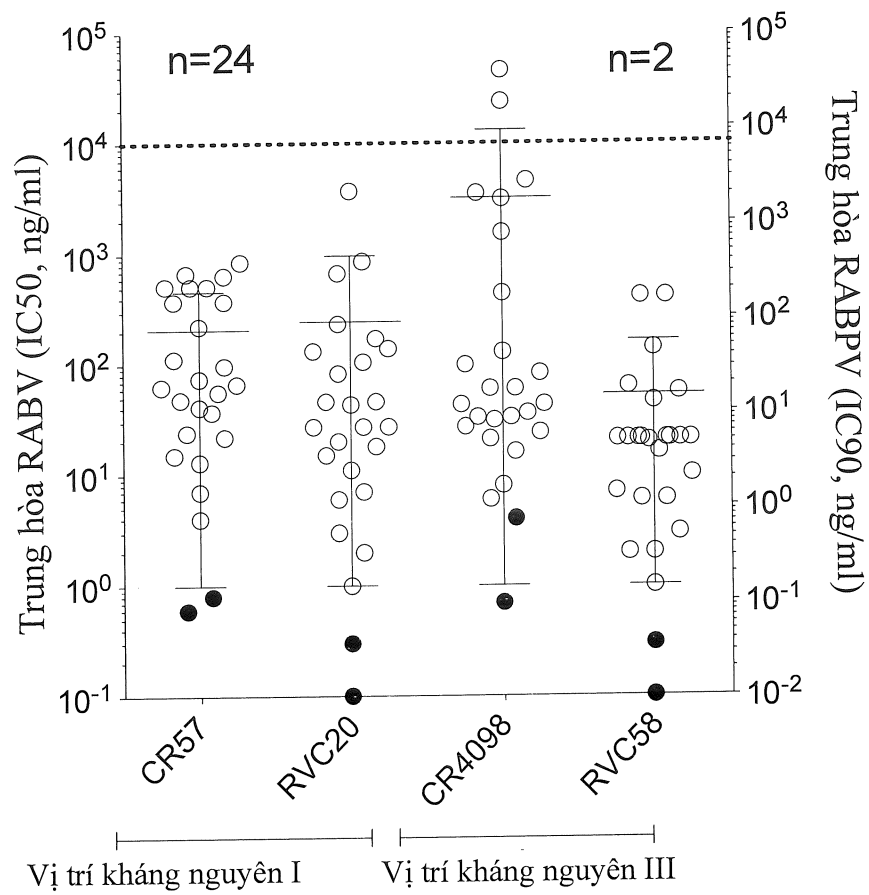
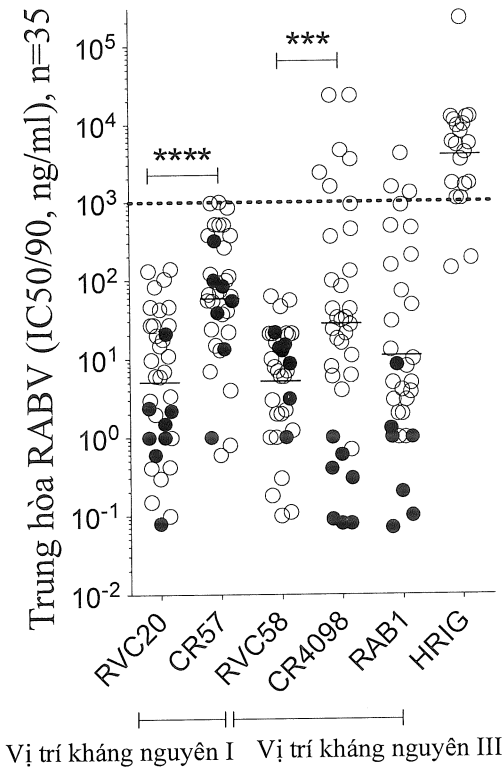


Fig. 9

11/34

A



B

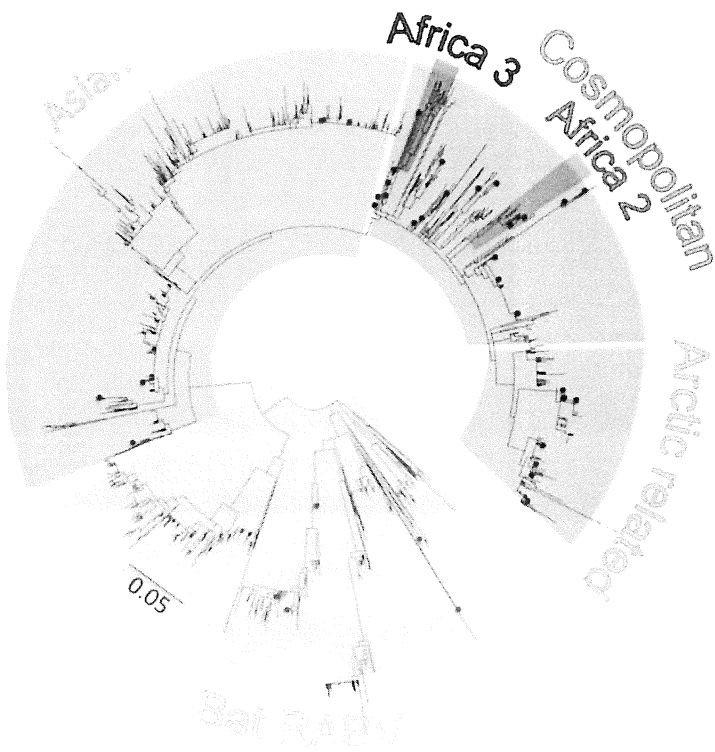


Fig. 10

12/34

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

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

Fig. 11

Tên chủng	Vật chủ	Quốc gia	Năm	Loại virus	Nhóm	Giống	RVC58	RVC20	CR57	CR4098	HRIG (Beritab)	Thứ nghiệm trung hòa được sử dụng
9704	<i>Tadarida brasiliensis</i> (bat)	Argentina	1997	RABV	I	Bat (American indigenous)	6	83	63	83	188	RFFIT
Botswana/dog/BNVL2009-3580/V5493-2010	Chó	Botswana	2009	RABV	I	Cosmopolitan (ex Africa 1)	2	18	15	6	n.e.	FAVN
Botswana/honey badge/BNVL2009-6665/V5493-2010	Con lửng	Botswana	2009	RABV	I	Africa 3	21	46	7	27	n.e.	FAVN
Burkina Faso/dog/139-2007/V6155-2007	Chó	Burkina Faso	2007	RABV	I	Africa 2	46	27	855	3524	n.e.	FAVN
Burkina Faso/dog/9-2007/V6155-2007	Chó	Burkina Faso	2007	RABV	I	Africa 2	21	234	648	45926	5075	FAVN
02045	Chó	Trung Quốc	2002	RABV	I	Asian 1 or 2a (China)	1	133	4	445	1604	RFFIT
France/red fox/GS7 1-11-1990/V1039-2011	Cáo đỏ	Pháp	1990	RABV	I	Cosmopolitan-Western Europe	21	46	515	43	n.e.	FAVN
Pasteur Virus (PV)-Paris-93127	na	Pháp	na	RABV	I	na	56	1	56	24	14	RFFIT
9001	Chó (virus doi hút máu)	French Guyana	1990	RABV	I	Bat (American Indigenous)	63	140	41	130	140	RFFIT
Italy/dog/V3425/2009	Chó	Italy	2009	RABV	I	Cosmopolitan-Western Europe	3	43	74	33	12315	FAVN
Italy/human/V117/1996 (Nepal)	Con người	Italy	1996	RABV	I	Arctic-like-1	21	3704	48	31	269	FAVN
Italy/red fox/V673/2011	Cáo đỏ	Italy	2011	RABV	I	Cosmopolitan-Western Europe	21	105	378	43	n.e.	FAVN
Brazil/bat/260-08/RS/249-2013	Dơi/ <i>Mus musculus</i> *	Mỹ Latinh	2008	RABV	I	Bat (American indigenous)	415	873	678	60	12192	FAVN
Brazil/bovine/303-2011/RS/1040-2012	Dơi hút máu	Mỹ Latinh	2011	RABV	I	Bat (American indigenous)	140	678	224	60	12192	FAVN
Brazil/kinkajou/RS3609-5-2011	Không biết	Mỹ Latinh	2008	RABV	I	Bat (American indigenous)	2	2	520	1571	5509	FAVN
Chủng virus thử thách (CVS)-11	na	na	na	RABV	I	na	13/16/0.1	1171, 20, 0.1	2841	56/4408/ 4	58054/57 78/987	FAVN/RFFIT/PV
9508SAD BERN	na	na	na	RABV	I	na	7	1	1000	23600	221300	RFFIT
Niger/Dog/105-251-2007/V6097-2007	Chó	Niger	2007	RABV	I	Africa 2	21	27	515	4593	n.e.	FAVN
04030	Người bị chó cắn	Philippines	2004	RABV	I	Asian 2b (Philippines)	6	6	13	543	4233	RFFIT
Poland/raccoon dog/1985/V3225-2009	Chó Raccoon	Phân Lan	1985	RABV	I	Cosmopolitan, North-Eastern Europe	20	27	377	33	n.e.	FAVN
9141	Cáo bắc cực	Siberia, Nga	1988	RABV	I	Arctic 2 (Siberia)	10	11	22	930	10965	RFFIT
Spain/dog/201020958-2010/RS639-2012	Chó	Spain (ex Morocco)	2010	RABV	I	Cosmopolitan (ex Africa 1)	415	172	97	36	7179	FAVN
8743	Con người	Thái Lan	1983	RABV	I	Asian 2c (south East Asia)	7	3	66	99	1700	RFFIT
Tunisia/dog/ARIANA2-1991/V3951-2010	Chó	Tunisia	1991	RABV	I	Cosmopolitan (ex Africa 1)	21	15	113	16	n.e.	FAVN
ERA (Evelyn Roktinski Abelseth)	na	na	na	RABV	I	na	0.3	0.3	0.8	0.7	1086	PV
CVS 9.13	na	na	na	RABV	I	na	21	7	24	23600	1700	RFFIT

Fig. 12

14/34

Tên chủng	Vật chủ	Quốc gia	Năm	Loại virus	Nhóm	RVC58	RVC20	CR57	CR4098	HRIG (Berirab)	Thử nghiệm trung hòa được sử dụng*	Số đăng ký
ABLV/Australia/bat/9810AUS-1998/V1039-2011	<i>Pteropus alecto</i> (Black flying fox)	Australia	1996	ABLV	I	21	397	875	96	-	FAVN	NA
98010	Insectivorous bat	Australia	1996	ABLV	I	800	-	15600	-	-	REFIT	AA047899.1
1301 Bokeloh bat lyssavirus	<i>Myotis nattereri</i> (dơi)	Pháp	2013	BBLV	I	24	22	54	38'06	-	REFIT	NA
861325A	Con người	Nam Phi	1971	DUVV	I	60	83	5900	-	-	REFIT	NA
DUVV/SouthAfrica/human/961325A-1971/RS639-2012	Con người	Nam Phi	?	DUVV	I	415	52650	17433	-	251821	FAVN	NA
EBLV1a/France/bat/122938-2002/V3951-2009	<i>Eptesicus serotinus</i> (dơi)	Pháp	2002	EBLV-1	I	815	569	-	-	NA	FAVN	NA
EBLV1b/France/bat/8918-1989	<i>Eptesicus serotinus</i> (dơi)	Pháp	1989	EBLV-1	I	7	129	-	-	49101	REFIT	EU293112
EBLV2/Uk/bat/RV1332-2002/V3951-2009	<i>Myotis daubentonii</i> (dơi)	Anh	2002	EBLV-2	I	919	52649	17433	-	-	FAVN	NA
94112	<i>Myotis daubentonii</i> (dơi)	Hà Lan	1989	EBLV-2	I	500	1562	28	28	NA	REFIT	NA
02053	<i>Myotis dasycneme</i> (dơi)	Thụy Sĩ	2002	EBLV-2	I	250	33	21	21	NA	REFIT	NA
MOK	<i>Myotis dasycneme</i> (dơi)	Zimbabwe	1981	MOK	II	-	7	-	-	-	REFIT	NA
Shimoni bat Virus	Mèo	Kenya	2009	SHIBV	II	-	28	-	-	-	PV	NA
West Caucasian bat Virus	<i>Hipposideros commersoni</i> (bat)	Nga	2002	WCBV	III	-	-	-	-	-	PV	NA
Australian bat lyssavirus/RV634	<i>Miniopterus schreibersi</i> (bat)	Australia	1996	ABLV	I	0.1	0.1	0.1	3	268	PV	NA
Aravan Virus	<i>Pteropus alecto</i> (bat)	Kyrgyzstan	1991	ARAV	I	0.1	0.1	0.1	1757	-	PV	AAP86775.1
Duvenhage Virus RSA2006	<i>Myotis blythi</i> (bat)	Nam Phi	2006	DUVV	I	0.2	0.7	116	-	-	PV	EU623444
Duvenhage Virus ZIM86-RV131	?	Zimbabwe	1986	DUVV	I	1	3	15	-	-	PV	NA
European bat lyssavirus 1.RV20	Dơi	Đức	1986	EBLV-1	I	0.1	0.3	-	-	49101	PV	NA
European bat lyssavirus 1.RV9	Dơi	Đức	1988	EBLV-1	I	1	4	-	-	-	PV	EU352768
EBLV1a/France/bat/122938-2002/V3951-2009*	<i>Eptesicus serotinus</i> (dơi)	Pháp	2002	EBLV-1	I	0.1	16	26579	-	10925	PV	NA
EBLV2/Uk/bat/RV1332-2002/V3951-2009*	<i>Myotis daubentonii</i> (dơi)	Anh	2002	EBLV-2	I	1.75	0.23	13.45	11197	19501	PV	NA
European bat lyssavirus 2.RV1787	<i>Myotis daubentonii</i> (dơi)	Anh	2004	EBLV-2	I	0.2	0.1	2	-	-	PV	EU352769
European bat lyssavirus 2.RV628	<i>Myotis daubentonii</i> (dơi)	Anh	1996	EBLV-2	I	0.6	0.4	2	-	-	PV	NA
Irkut Virus	Bat	Anh	2002	IRKV	I	0.06	23	69	-	34510	PV	NA
Khujand Virus	<i>Murina leucogaster</i> (bat)	Nga	2002	KHUV	I	0.1	0.8	4	77056	72951	PV	AAP86779.1
8619*	<i>Myotis mystacinus</i> (bat)	Tajikistan	2001	LBV	II	-	-	-	-	-	REFIT	NA
Lagos Bat Virus NIG56-RV1	<i>Eidolon helvum</i> (bat)	Nigeria	1956	LBV	II	-	-	-	-	-	PV	EF547431
Lagos Bat Virus SA2004	<i>Eidolon helvum</i> (bat)	Nigeria	1956	LBV	II	-	-	-	-	-	PV	EF547428
Mokola Virus NIG68.RV4	<i>Eptesicus wahlbergi</i> (bat)	Nam Phi	2004	LBV	II	-	-	-	397	-	PV	HM623780
Mokola Virus 98/071 RA36	<i>Crocidura sp.</i> (Shrew)	Nigeria	1968	MOK	II	-	-	-	-	-	PV	NA
	Feline	Nam Phi	1998	MOK	II	-	-	-	-	-	PV	QA500108

Fig. 13

15/34

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

Fig. 14

16/34

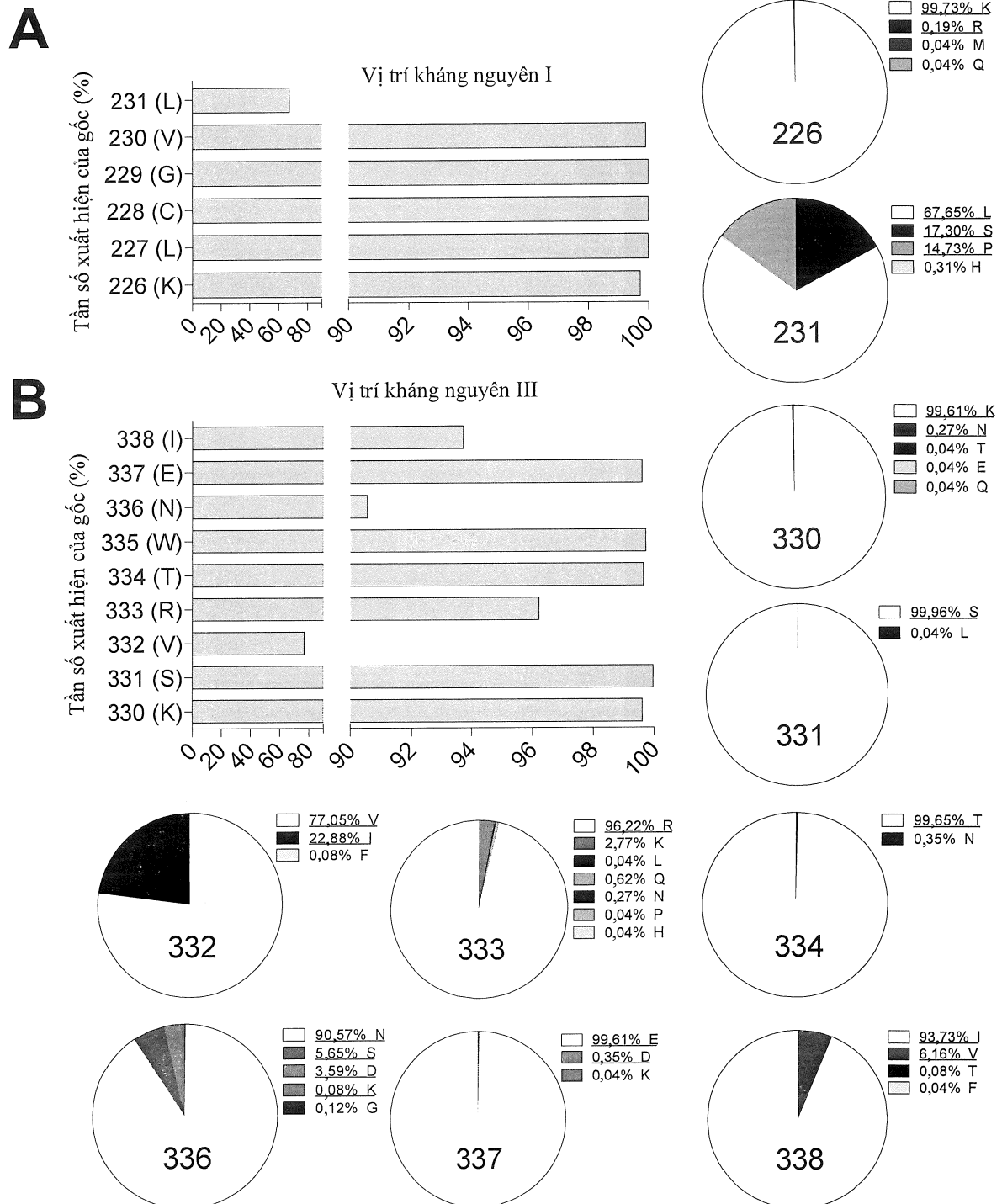


Fig. 15

17/34

A

B

Vị trí kháng nguyên I		CR57	RVC20	Vị trí kháng nguyên III		CR4098	RAB1	RVC58
RABV-Spain-Dog-2010	KGACKLKLCGVLGRLMD 18			RABV-Spain-Dog-2010	EADAHYKSVRTWNEIIPSKGC 21			
RABV-IRA-86081-1985	18			RABV-IRA-86081-1985	21			
RABV-ISR-DOG-93033-1993	18			RABV-ISR-DOG-93033-1993	21			
RABV-Tun-Dog-1991	18			RABV-Tun-Dog-1991	21			
RABV-OMA-91035-1991	18			RABV-OMA-91035-1991	21			
RABV-It-Dog-2009	18			RABV-It-Dog-2009	21		nd	
RABV-It-redfox-2011	18			RABV-It-redfox-2011	21		nd	
RABV-Fr-RedFox-1990	18			RABV-Fr-RedFox-1990	21		nd	
RABV-PO-raccoon-2009	18			RABV-PO-raccoon-2009	21			
RABV-Bot-dog-2009	18			RABV-Bot-dog-2009	21		nd	
RABV-It-Human-1996	18			RABV-It-Human-1996	21			
RABV-AFG-02052-2002	18			RABV-AFG-02052-2002	21			
RABV-9141-1988	18			RABV-9141-1988	21	(0.93)		
RABV-USA-91004-1991	18			RABV-USA-91004-1991	21			
RABV-BF-Dog9-2007	18			RABV-BF-Dog9-2007	21			
RABV-NIGER-Dog-2007	18			RABV-NIGER-Dog-2007	21		nd	
RABV-BF-Dog139-2007	18			RABV-BF-Dog139-2007	21		nd	
RABV-Mau-Dog-2006	18			RABV-Mau-Dog-2006	21	(0.36)		
RABV-PHI-04030-2004	18			RABV-PHI-04030-2004	21			
RABV-USA-91001-1991	18			RABV-USA-91001-1991	21			
RABV-PAK-RV193	18			RABV-PAK-RV193	21			
RABV-IND-RV61	18			RABV-IND-RV61	21			
RABV-PAK-RV277	18			RABV-PAK-RV277	21			
RABV-RUS-RV250	18			RABV-RUS-RV250	21			
RABV-TH-8743-1983	18			RABV-TH-8743-1983	21			
RABV-NEP-09029-2003	18			RABV-NEP-09029-2003	21			
RABV-CH-9508SAD	18			RABV-CH-9508SAD	21			
RABV-ERA	18			RABV-ERA	21			
RABV-PARIS-93127	18			RABV-PARIS-93127	21			
RABV-Bot-HB-2009	18			RABV-Bot-HB-2009	21		nd	
RABV-02045-2002	18			RABV-02045-2002	21			
RABV-CHI-98011-1998	18			RABV-CHI-98011-1998	21			
RABV-CVS-11	18			RABV-CVS-11	21			
RABV-CVS9-13	18			RABV-CVS9-13	21		nd	
RABV-PV12	18			RABV-PV12	21			
RABV-9001-1990	18			RABV-9001-1990	21			
RABV-BR-bovine-2011	18			RABV-BR-bovine-2011	21			
RABV-ARG-9704	18			RABV-ARG-9704	21			
RABV-BR-Bat-2008	18			RABV-BR-Bat-2008	21			
RABV-BR-KIN-2011	18			RABV-BR-KIN-2011	21		nd	
ABLV-V1039-2011	18			ABLV-V1039-2011	21			
ABLV-RV634	18			ABLV-RV634	21			
ABLV-98010	18			ABLV-98010	21			
EBLV2-RV1787	18			EBLV2-RV1787	21			
EBLV2-RV628	18			EBLV2-RV628	21			
EBLV2-V3951-2009	18			EBLV2-V3951-2009	21		nd	
EBLV2-94112	18			EBLV2-94112	21			
KHUV-TAJ-2001	18			KHUV-TAJ-2001	21			
BBLV-1301	18			BBLV-1301	21			
EBLV1-RV9	18			EBLV1-RV9	21		nd	
EBLV1-V3951-2009	18			EBLV1-V3951-2009	21		nd	
EBLV1-RV20	18			EBLV1-RV20	21			
EBLV1-8918-1989	18			EBLV1-8918-1989	21			
ARAV-KYR-1991	18			ARAV-KYR-1991	21			
DUVV-86132	18			DUVV-86132	21		nd	
DUVV-RSA-2006	18			DUVV-RSA-2006	21			
DUVV-ZIM86-RV131	18			DUVV-ZIM86-RV131	21			
DUVV-RS639-2012	18			DUVV-RS639-2012	21		nd	
IRKBV-RUS-2002	18			IRKBV-RUS-2002	21		nd	
LBV-8619	18			LBV-8619	21		nd	
LBV-NIG56-RV1	18			LBV-NIG56-RV1	21			
LBV-SA2004	18			LBV-SA2004	21			
SHIBV-KEN-2009	18			SHIBV-KEN-2009	21			
MOKV-ZIM-1981	18			MOKV-ZIM-1981	21		nd	
MOKV-NIG68-RV4	18			MOKV-NIG68-RV4	21			
MOKV-RA36	18			MOKV-RA36	21		nd	
WCBV-RUS-2002	18			WCBV-RUS-2002	21			
IKOV-RUS-2002	18			IKOV-RUS-2002	21			

Fig. 16

18/34

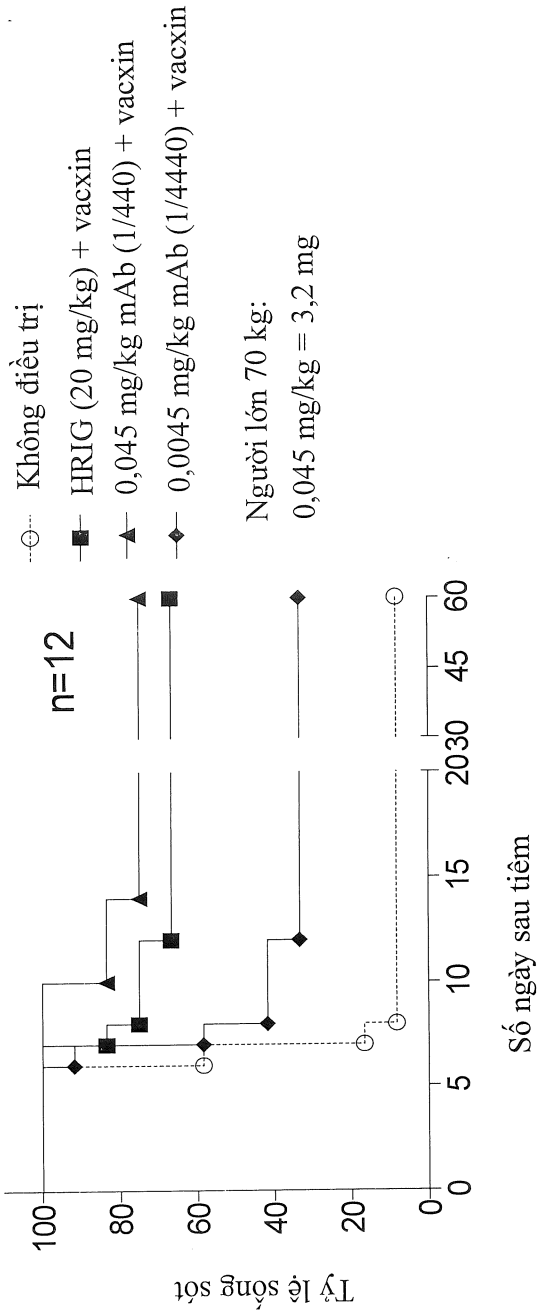


Fig. 17

19/34

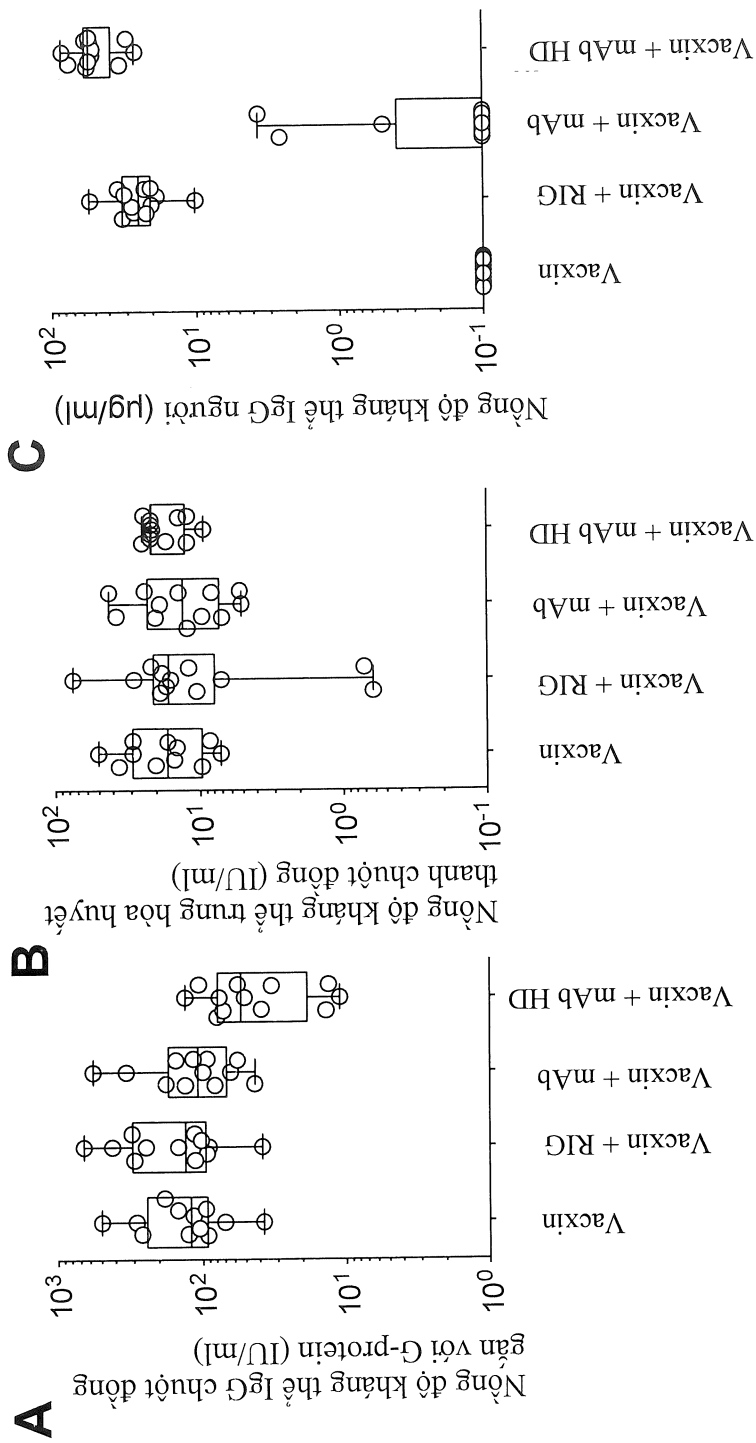


Fig. 18

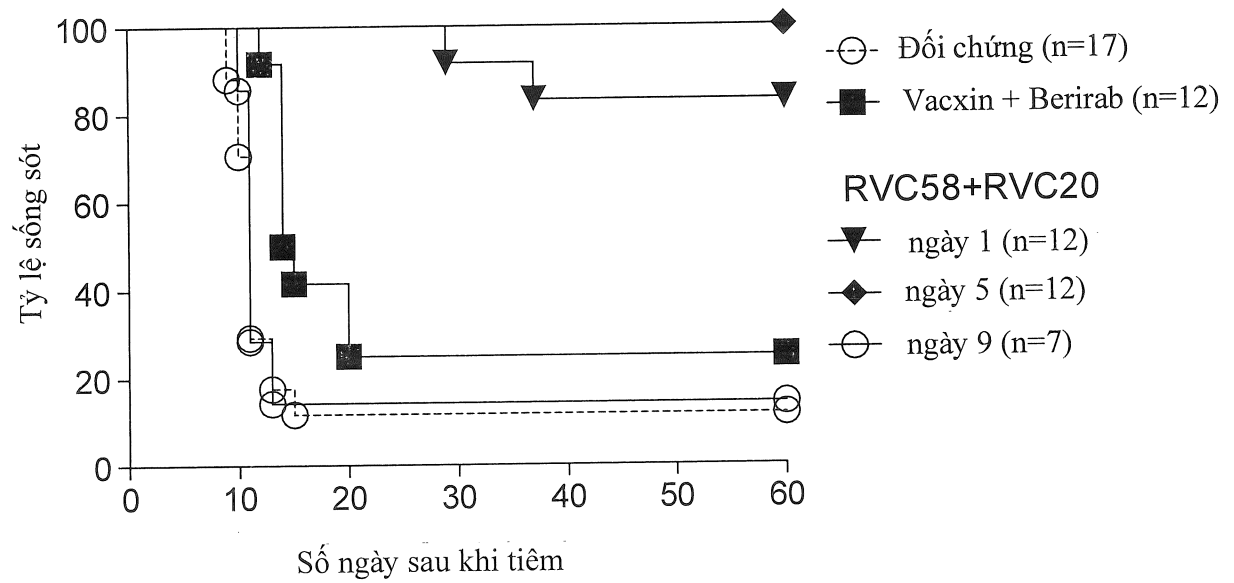
20/34

Fig. 19

21/34

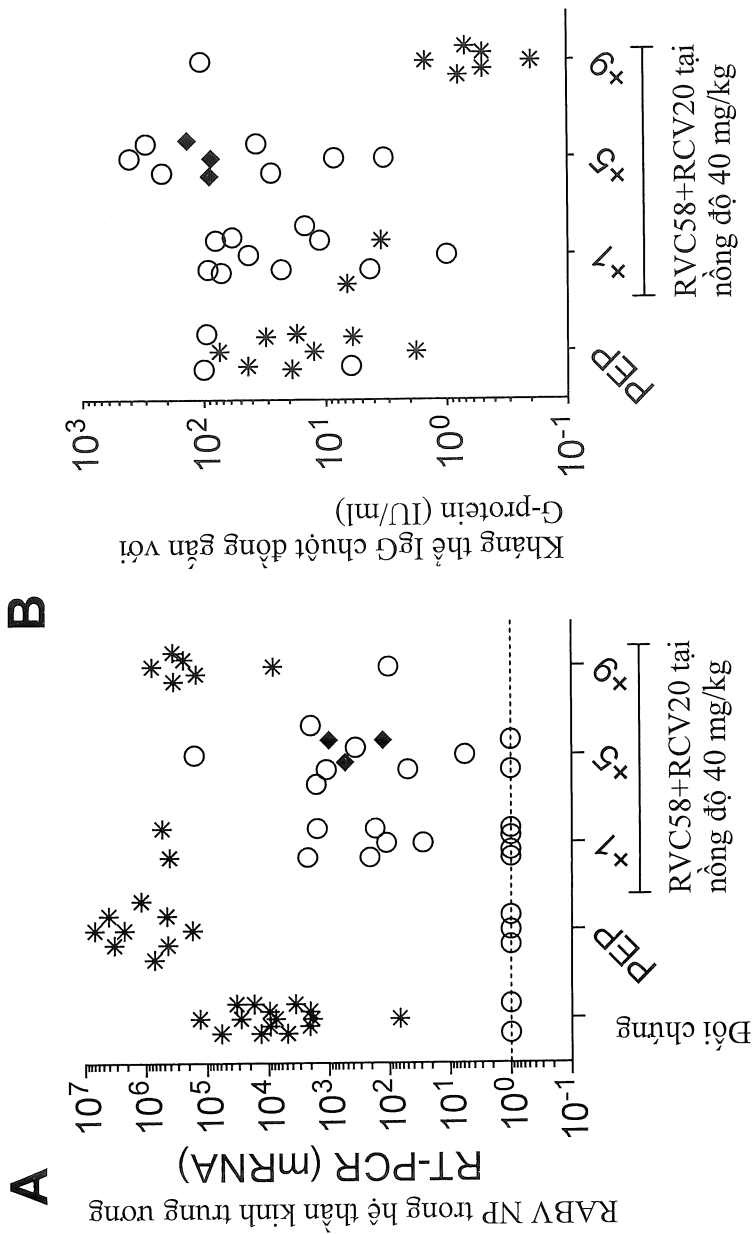


Fig. 20

22/34

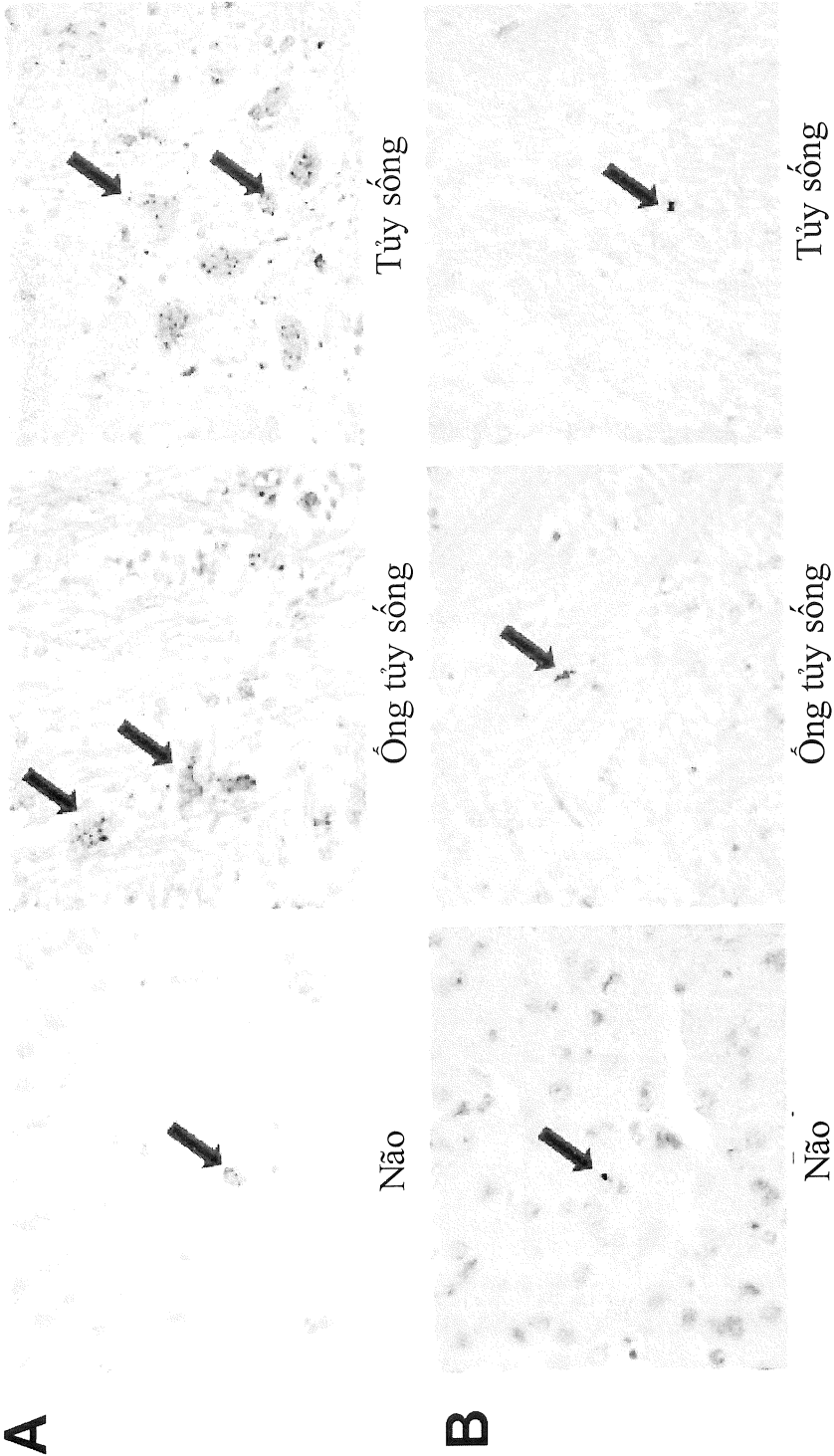


Fig. 21

23/34

RVA122:VH: IGHV4-59*03 (95,09%), IGHJ6*02 (a) (88,71%), IGHD4-17*01

cagggtgcacctgcaggagtcggggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacct
gcactgtctct**GGTGACTCCATGAATAATTTCTAC**tggggctggatccggcagcccgagggaa
gggactggagtggttggatat**ATCTATTACAGTGGGACCACC**aactacaacccctccctcaag
agtcgagtcaccatatcaatagacacgtccaagaaccaattctccctgaagggtgaactctgtga
ccgctgctggacacggccgtgtattattgt**GCGAGAGACTCCGGTGACTACGTCAGCTACTACTA**
TTATGGTATGGACGTCtggggcccagggaccacggtcaccgtctcctcag

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

VL:

IGLV1-47*01 (94,04%), IGLJ3*02 (91,89%)

cagtctgtgctgactcagtcaccctcagcgtctgataccccgggcagaggggtcaccatctctt
gttctggaagc**AGCTCCAACATCGGAAGTAATTAT**gtgtattggtaccagcagttcccaggaac
ggcccccaaactccttattttac**AAGAGTGAT**aagcgggccctcaggggtccctgaccgattctct
ggctccacgtctggcacctcagcctccctggccatcagtgggctccgggtccgaagatgaggctg
attattactgt**GCAGCATGGGATAACAGGCTGAGTGGTTGGCTC**ttcggcggagggacgaagct
gaccgtcctag

QSVLTQSPSASDTPGQRVTISCSGSS**snignsny**VYWYQQFPGTAPKLLIY**ksd**KRPSGVPDRFS
GSTSGTSASLAISGLRSEDEADYYC**aawdnrlsgwl**FGGGTKLTVL

Fig. 22

24/34

RVA144:VH: IGHV4-39*01 (92,44%), IGHJ5*02 (84,31%), IGHD4-4*01

cagctgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccctcggagaccctgtccctcactt
gcactgtctct**GGTGGTTCCATCAGCAGTACTATTTTCTAC**tggggctggatccgccagccccc
aggaaggactggagtggttgggagt**GTCTATTATAATGGACACACC**tactacaatccgtcc
ctcaagagtcgagtcgccatatccattgacaagtccaagaaccagttctccctgaggcttaact
ctgtgaccgccgcggacacggctgtatattactgt**GCGAGACCCTCAACATATGACTACAGTAT**
TGGGCGCTtggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVS**ggsisstify**WGWIRQPPGKLEWIGS**vyyngh**tYYNPS
LKSRVAISIDKSKNQFSLRLNSVTAAADTAVYY**Carpstydy****sigr**WGQGLTVTVSS

VL: IGLV1-40*01 (96,88%), IGLJ2*01, or IGLJ3*01 or IGLJ3*02 (91,67%)

cagtccgtgctgacgcagccgccctcagtgctcgggcccaggagcagagggtcaccatctcct
gcactgggagc**AGCTCCAACATCGGGGCAGTTATGAT**gtccactggtaccagcaacttccagg
aacagcccccaaactcctcatctat**GGTAACACCA**aagcggccctcaggggtccctgaccgattc
tctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatcactgggctcctgactgaggatgagg
ctgattattactgc**cAGTCCTTTGACAGCAGCCTGAGTGCTTGGGTA**ttcggcggagggaccaa
actgaccgtcctgg

QSVLTQPPSVSRAPGQRVTISCTGS**ssnigagy**dVHWYQQLPGTAPKLLIY**gnt**KRPSGVPDRF
SGSKSGTSASLAITGLLTEDADYYC**qsfdsslsawv**FGGGTKLTVL

Fig. 23

25/34

RVB185:

VH:

IGHV4-39*01 (88,85%), IGHJ4*02 (85,42%), IGHD3-9*01

caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacct
gcagtgtctccc**GGTGCCCCCGTCAGTGGTGTTAACTCCTACT**tggtgtggatccgccagccccc
cgggaaggggctggagtggttgcgact**ATCAAGTACAGTGGGAGCACC**caccgtagcccgtcg
ctcaggagtcgagtcaccatatccgtagacacgtccaagaatcagttctccctggagctgagct
ctgtgaccgccgctgacacggctgtatattactgt**GCCAGACAAAGTACTATGACGGGCCGGGA**
CTACTggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCSVSgapvsgvnsyWVWIRQPPGKGLEWIA**TIkysgst**HRSPS
LRSRVTISVDTSKNQFSLELSSVTAADTAVYYC**arqstmtgrdy**WGQGLVTVSS

VL:

IGLV1-44*01 (95,09%), IGLJ3*02 (97,37%)

cagtctgtgctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccgggcagaggggtcaccatctctt
gttctggaagc**AGATCCAACATCGGAAGCCATCCT**gtaaactggtaccagcagctcccgggagc
ggcccccaagctcctcatctat**GGTGATAGT**cagcgaccctcaggggtccctgaccgattctct
ggctccaagtctggcccctcagcctccctggccatcagtggactccagtctgaagatgaggctg
attattactgt**GCAGCATGGGATGACAGCCTGAGTGGCCTTTGGGTG**ttcggcgaggaggaccaa
gctgaccgtcctaa

QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSG**rsnigshp**VNWYQQLPGAAPKLLIY**gds**QRPSGVPDRFS
GSKSGPSASLAISGLQSEDEADYYC**aaawddslsglww**FGGGTKLTVL

Fig. 24

26/34

RVB492:

VH-biến thể 1: IGHV3-23*01, or IGHV3-23*04 or IGHV3-23*05 (90,28%), IGHJ4*02 (97,92%), IGHD3-10*01

gaggtgcagctgatggagtctgggggagggcctggtacagccggggggggtccatgagactctact
gtgcagcctct**GGATT**CAGCTTTAGCAGCTATGCCatgagctgggtccgccagggtccagggaa
ggggctcgagtgggtctcaagt**CTTAATTCTATTGATCATAGAACA**gactatgcagactccgtg
aagggccggttcaccatctccagagacaattccaagaacaccctgtatttacaatggacagcc
tgagagtcgaggactcggccatgtattactgt**GCTCGGGGGGTGGGACTATGGTTCGGTGAATT**
ATCCTGGAATTACTTTGACTACtggggccagggaaccctgggtcaccgtctcctcag

EVQLMESGGGLVQPGGSMRLYCAAS**gfsfssya**MSWVRQAPGKGLEWVSS**l**nsidhrtDYADSV
KGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRVEDS**AMYYC**argvglwfgelswnyfdyWGQGTlVTVSS

VH-biến thể 2: IGHV3-23*04 (90,24%), IGHJ4*02 (97,92%), IGHD3-10*01

gaggtgcagctgggtgcagtctgggggagggcctggtacagccggggggggtccatgagactctact
gtgcagcctct**GGATT**CAGCTTTAGCAGCTATGCCatgagctgggtccgccagggtccagggaa
ggggctcgagtgggtctcaagt**CTTAATTCTATTGATCATAGAACA**gactatgcagactccgtg
aagggccggttcaccatctccagagacaattccaagaacaccctgtatttacaatggacagcc
tgagagtcgaggactcggccatgtattactgt**GCTCGGGGGGTGGGACTATGGTTCGGTGAATT**
ATCCTGGAATTACTTTGACTACtggggccagggaaccctgggtcaccgtctcctcag

EVQLVQSGGGLVQPGGSMRLYCAAS**gfsfssya**MSWVRQAPGKGLEWVSS**l**nsidhrtDYADSV
KGRFTISRDN SKNTLYLQMDSLRVEDS**AMYYC**argvglwfgelswnyfdyWGQGTlVTVSS

VL: IGLV2-11*01 (96,88%), IGLJ2*01, or IGLJ3*01 (96,88%)

cagtctgccctgactcagcctcgctcagtgtccgggtctcctggacagtcagtcaccatctcct
gcactggaacc**AGCAATGATATTGGTGGTTATAACTAT**gtctcctggtaccaacaacaccagg
caaagcccccaaactcatgattttt**TATGTCAAT**aagcggccctcaggggtccctgatcgcttc
tctggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgggctccagggtgaggatgaag
ctgattattactgc**TGCTCATTGTCAGGCAGTTACTCCTTA**ttcggcagaggggaccaagctgac
cgtcctag

QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGT**sndiggyny**VSWYQQHPGKAPKLMI**Fyvn**KRPSGVPDRF
SGSKSGNTASLTISGLQAEDADYY**Ccsfagsysl**FGRGTKLTVL

Fig. 25

27/34

RVC3:VH: IGHV3-23*01 (90,97%), IGHJ4*02 (a) (93,75%), IGHD3-3*01

gaggtgcagctgttggagctctgggggaggcctggtgcagccgggggggtccctgagactctcct
 gtgcagcctct**ACATTACGTTTAGAACTATGCC**atgtcctgggtccgccaggctccaggga
 ggggctggactgggtctcaggg**ATTAGTGCTAGTGGTAGTAGCACG**aattatgcagcctccctg
 aagggccgatttaccatctccagagacaattccaagaacacattgtatctgcaaataaacagcc
 tgagagccgaggacacggccgtctattactgt**GCGAAATTTGCTCACGATTTTTGGAGTGGTTA**
TTCTTACTTTGACTCCtggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

EVQLLES^GGGGLVQPGGSLRLS^ACAAS**tftfrnya**MSWVRQAPGKGLDWVSG**isagsst**NYAASL
 KGRFTISRDN^SSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**akfahdfwsgysyfds**WGQGTLVTVSS

VK: IGKV3-15*01 (98,21%), IGKJ5*01 (100%)

W

gaaatagtgatgacgcagctctccagccaccctgtctgtgtctccaggggaaagagccaccctct
 cctgcagggccggt**CAGAGTGTTAACAGCAAC**ttagcctgggtaccagcagaaacctgggcaggc
 tcccagactcctcatctat**GGTGCATCC**accagggccactggtatcccagccaggttcagtggc
 agtgggtctgggacagagttcactctcaccatcagcagcctgcagtctgaagattttgcagttt
 attactgt**CAGCAGTATAATAATTGGGTTTCGATCACC**ttcggccaagggacacgactggagat
 taaac

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRAG**qsvnsn**LAWYQQKPGQAPRLLIY**gas**TRATGIPARFSG
 SGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC**qqynnwvsi**tFGQGRLEIK

Fig. 26

28/34

RVC20:VH: IGHV4-31*06 (95,86%), IGHJ4*02 (89,58%), IGHD3-3*01

caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcacct
gcactgtctcc**GGTGGCTCCTTCAGCAGTGAAGTTACTCC**tggaactggatccgccagcaccc
aggaaggcctggagtggattgggtac**ATCTATTACAGTGGGAGCACT**tattacaaccggtcc
ctcaagagtcgagttaccatgtcagtacacacgtctaagaaccagttctccctgaagctgaact
ctataactgccgcggacacggccgtgtattactgt**GCGAGAGGCACGTATTCCGATTTTGGAG**
TGGTCCCCCTTTAGACTACTggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

QVQLQESGPGLVKPSQTL^{SLT}CTVS**ggsfssgsys**WNWIRQHPGKGLEWIGY**iyysgst**YYNP
LKSRTVMSVHTSKNQFSLKLNS^ITAADTAVYY**cargtysdfwsgspldy**WGQGLTVTVSS

VK: IGKV1-16*01 (98,21%), IGKJ4*01 (100%)

gacatccagatgacccagtcctccatcctcactgtctgcatctgtaggagacagagtcacccatca
cttgtcgggcgagt**CAGGGCATTAGCAATTAT**ttagcctgggttcagcagaaaccagggaaagc
ccctaagtccttgatctat**GCTGCATCC**agtttgcaaagtggggtcccatcaagggtcagcggc
agtggatctgggacagatttcactctcaccatcaacagcctgcagcctgaagattttgtaactt
atttctgc**CAACAGTATGATACTTACCCTCTCACT**ttcggcggagggaaccaagggtggagatcaa
ac

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS**qgisny**LAWFQQKPGKAPKSLIY**aas**SLQSGVPSRFSG
SGSGTDFTLTINS^{LQ}PEDFV^{TYFC}**qqydypl**tfGGGTKVEIK

Fig. 27

29/34

RVC21:VH: IGHV4-39*01 (92,78%), IGHJ5*01, or IGHJ5*02 (a) (80,39%), IGHD4-17*01

cagctgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcggagaccctgtccctcacgt
gcactgtctct**GGTGGCTCCATCAGCAACCCTAACTACTAC**tggggctggatccgccagccccc
aggaagggtctggaatggattgggagt**ATCTATTATAATGGGTACACC**tactacaaccgtcc
ctcaagagtcgagttaccatatccgtggacaagtccaaggaccagttctttctgaagatgacct
ctctgaccgccgcagacacggctgtgtattactgt**GCGACGCAATCTACGATGACTACCATAGC**
GGGCCACTACtggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcag

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS**ggsisnpnyy**WGWIRQPPGKGLEWIGS**iyyngyt**YYNPS
LKSRVTISVDKSKDQFLKMTSLTAADTAVYY**Catqstmttiaghy**WGQGLTVTVSS

VL: IGLV1-51*01 (96,49%), IGLJ1*01 (100%)

cagtctgtattgacgcaggcgccctcagtgtctgcggccccaggactaaaggtcaccatctcct
gctctggaagc**ACATCCAACATTGGGAATTCTTAT**gtatcctggtaccagcagctcccagggaac
agccccaaactcctcatttat**GACAATAAT**aagcgaccctcagggattcctgaccgattctct
ggctccaagtctgacacgtcagccaccctgggcatcaccggactccagactggggacgaggccg
attattactgc**GGAACATGGGACAGCAGCCTGAATGCTTATGTC**ttcggaaactgggaccaaggt
caccgtcctag

QSVLTQAPSVSAAPGLKVTISCSGS**tsnignsy**VSWYQQLPGTAPKLLIY**dnn**KRPSGIPDRFS
GSKSDTSATLGITGLQTGDEADYYC**gtwdssl**ayvFGTGTKVTVL

Fig. 28

30/34

RVC38:VH: IGHV1-69*06 (91,32%), IGHJ4*02 (85,42%), IGHD5-24*01

gaggtgcagctggtgcagctctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcggtgagggctctcct
gcaaggcttct**ggaggcaccttcagcagctatgccat**cagctgggtgcgacaggcccctgggct
agggcttgagtggatgggaggg**atcatgcctatgtttgtggcggc**aaactacgcacagaacttc
cagggcagagtcacggtttctgtggacaaatccacgaacaccgcctatatggagatgcacaacc
tgagatctgacgacacggccatgtattactgt**gcgagaggggatggctacaattacaagtggta**
ttttgaccttggggccagggaaccctagtcaccgtctcctcag

EVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSKAS**ggtfssya**ISWVRQAPGLGLEWMGG**impmfva**NYAQNF
QGRVTVSVDKSTNTAYMEMHNLRSDDTAMYYC**argdgynykwyfdl**WGQGTLVTVSS

VK: IGKV1-9*01 (96,06%), IGKJ4*01 (100%)

gacatccagttgaccagtcctccatccttctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
cttgccgggccaagt**caggacattagtaattat**ttagcctgggtatcagcaaaaaccaggggaagcc
ccctaaactcctgatctat**gctgcatcc**actttgcaaaggggggtcccatcaagggttcagtggc
agtggatctgggtcagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaactt
attactgt**caacagcttgatacttacgtcgcgcctcact**ttcggcggaggggaccaaggtggagat
caaac

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRAS**qdisny**LAWYQQKPGKPPKLLIY**aas**TLQRGVPSRFSG
SGSGSEFTLTISSLPEDFATYYC**qql**ldtyvaltFGGGTKVEIK

Fig. 29

31/34

RVC44:VH: IGHV3-21*01 (92,36%), IGHJ3*02 (86%), IGHD6-19*01

gaggtgcagctggtgcagtctgggggagggcctggtcaagcctgggggggtccctgagactctcct
 gtgcagcctct**GGCTTCACCTTTAGTAGTTATAGT**atgagttgggtccgccagggtccaggga
 gggcctggagtgggtctcatcc**ATCAGTACTACTGGTACTTACATA**tactacgcagactcagt
 gagggccgattctccatttccagagacagcgccaggagctctctgtttctgcaaatgaacagcc
 tgagagccgaggacacggctgtctattactgt**GCGAGACGGTCGGCCATAGCACTGGCTGGTAC**
GCAGCGTGCTTTTGATATCtggggcccagggacaaacgtcatcgtctcttcag

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

VK: IGKV1-39*01, or IGKV1D-39*01 (95,34%), IGKJ1*01 (100%)

gacatccagatgaccagtcctccatcttccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
 cttgccggggaagt**CAGAACATTAACA**ACTATttaaattggtatcagcagaaactagggaaagc
 ccctaagctcctgatctat**GCTGCATCC**agtttacatagtggggtcccatcaaggttcagtgcc
 agtggatctgggacagatttctattctgaccatcagtaatctgcaacctgaagattgtgcaactt
 actactgt**caacagagttacagtaacccttggacg**ttcggccaagggaccaagggtggaaatcaa
 ac

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS**qni**nnnyLNWYQQKLGKAPKLLIY**aas**SLHSGVPSRFSA
 SSGSGTDFILTISNLPEDCATYYC**qqs**ysnpwtFGQGTKVEIK

Fig. 30

32/34

RVC58:VH: IGHV3-23*04 (96,18), IGHJ6*02 (a) (95,16%), IGHD2-15*01

gaggtgcagctggtggagtcctgggggaggcttggtacagcctgggggggtccctgagactctcct
 gtgcggcctct**GGATTACCTTTAGCACCTATGCC**atgaattgggtccgccaggctccagggaa
 ggggctggagtggtgtcaggt**ATTAGTGATAGAGGTGGTAGTAGA**tactacgcaggctccgtg
 aagggccggttcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtttctgcaaataaacagcc
 tgagagccgaggacacggccgtatattactgt**GCGAGAGATATTGCCCCCATATAACTACTA**
CTTCTACGGTATGGACGTCtggggccgagggaaccacgggtcacccgtctcctcag

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**gftfsty**aMNWVRQAPGKGLEWVSG**isdrggsr**YYAGSV
 KGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYY**Cardiappynyfygm**dvWGRGTTVTVSS

VL: IGLV2-14*01 (97,57%), IGLJ2*01, or IGLJ3*01 (94,44%)

cagtcctgccctgactcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgatcaccatctcct
 gcactggtacc**AGCAGTGACATTGGTGCTTTTA**ACTATgtctcttggtaccaacagcaccagg
 caaagcccccaaactcataatcttat**GAGGTCAGT**aatcgccctcaggggtttctaatcgcttc
 tctggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgggctccaggctgaggacgagg
 ctgattattactgc**AACTCATATACAAGCAGCAGCACTCAGTTA**ttcggcgaggaggaccaagct
 gaccgtcctag

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGT**ssdigafny**VSWYQQHPGKAPKLI**IYevs**NRPSGVSNRF
 SGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC**nsytssstql**FGGGTKLTVL

Fig. 31

33/34

RVC68:VH: IGHV4-59*01 (92,63%), IGHJ6*03 (a) (88,71), IGHD4-17*01

cagggtgcagctacaggagtcgggcccgaagactggtgaagccctcggagaccctgtccctcacct
gcactttctct**GGTGGCTCCATTAGTGAGCACCAC**tggagctggctccggcagtcgccagggaa
gggactggagtggttgatata**ATCTTTCACAGTGGGAGTACC**aactacaaccctccctcaag
agtcgagtcacatatcattagacaagtcgaagaaccagttctccctgaagctgagttctgtga
ccgctgcggaacggccgtgtatttctgt**GCGAGAGCGGTGTCTACTTACTACTATTACAT**
AGACGTCtggggccaagggaccacggtcacggtctcctcag

QVQLQESGPRLVKPSETLSLTCTFS**ggsi****sehh**WSWL**RQSP**KGLEWIGY**ifhsgst**NYNPSLK
SRV**NISL****DK**SKNQFSLKLSSVTAADTAVY**F****carav****styyyyy****idv**WG**Q**GT**TV**TVSS

VK: IGKV1-12*01, or IGKV1-12*02 or IGKV1D-12*02 (95,70%), IGKJ2*01, or IGKJ2*02 (94,44%)

gacatccagatgaccagtcctccatcttccgtgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
cttgtcgggagag**CAGGATATTAGCAACTGG**ttagcctggatcagcagaaaccagggaaagc
ccctaaactcctgatctat**GCTGCGTCC**agtttgcaaagtgggatctcatctaggttcagcggc
ggtggctctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaagtt
actactgt**CAACAGGCTAAGAGTTTCCCTCTTACT**tttgccaggggaccaagctggagatcaa
ac

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRAS**qdi****snw**LAWYQQKPGKAPKLLIY**aas**SLQSGI**SS**RFSG
GGSGTDFTLT**ISS**LQPEDFAS**YYC****qqaks****fpl**tFGQGTKLEIK

Fig. 32

34/34

RVC111:

VH: IGHV3-30*04 (97,57%), IGHJ4*02 (93,75%) IGHD1-14*01

caggtgcaactggtggagtctgggggaggcgtgggtccagcctgggaggtccctgagactctcct
 gtgcagcctct**ggattctccttcagtagctatgtt**atgtactgggtccgccagggtccaggcaa
 ggggctggagtgggtgacaatt**atatcatatgatggaagtaataaa**tactacgcagactccgtg
 aagggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaataaacagcc
 tgagagctgaggacacggctgtctattactgt**gcgagaggg**tccggaacccaaactcccctctt
tgactactggggccagggaaccctgggtcaccgtctcctcag

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS**GFS****FS****SYV**MYWVRQAPGKGLEWVTI**I****SYDGS****NKYYADSV**
 KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**ARGSGTQTPLFDY**WGQGTlVTVSS

VK : IGKV1-5*01 (95,70%), IGKJ1*01 (94,74%)

gacatccagatgaccagtcctccttcaccctgtctgcacatctgtgggagacagagtcaccatca
 cttgccggggccaat**cagagtattactagctgg**gtggcctggtatcagcagatgccaggagagc
 ccctaaactcctgatctat**gatgactcc**actttggaaagtggggtcccatcaagggttcagcggc
 agtggatctgggacagaattcactctcaccatcagcagcctgcagcctgatgatctttgcaactt
 attactgc**caacagtatgagagttattcagggacg**ttcggccaagggaaccaagggtggaaatcaa
 ac

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAN**QSIT****SW**VAWYQQMPGRAPKLLIY**DD****ST**LESGVPSRFSG
 SGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QQY****ES****SGT**FGQGTKVEIK

Fig. 33