



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

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

(11)   
**1-0021115**

(51)<sup>7</sup> **A61K 39/145, C12Q 1/70, C07K 16/10**

(13) **B**

(21) 1-2011-03402

(22) 06.05.2010

(86) PCT/EP2010/056217 06.05.2010

(87) WO2010/130636 18.11.2010

(30) 09159947.2 11.05.2009 EP

61/215,890 11.05.2009 US

10151155.8 20.01.2010 EP

(45) 25.06.2019 375

(43) 25.07.2012 292

(73) JANSSEN VACCINES & PREVENTION B.V. (NL)

Archimedesweg 4, NL-2333 CN Leiden, the Netherlands

(72) THROSBY, Mark (AU), FRIESEN, Robert Heinz Edward (NL), KWAKS, Theodorus Hendrikus Jacobus (NL), JONGENEELLEN, Mandy Antonia Catharina (NL)

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

(54) **PHÂN TỬ LIÊN KẾT CỦA NGƯỜI CÓ KHẢ NĂNG TRUNG HÒA VIRUT CÚM H3N2 VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA PHÂN TỬ LIÊN KẾT NÀY**

(57) Sáng chế đề cập đến phân tử liên kết, chẳng hạn như các kháng thể đơn dòng của người, liên kết với virut cúm chứa HA thuộc typ phụ H3, như H3N2, và có hoạt tính trung hòa phổ rộng chống lại virut cúm này. Sáng chế còn đề cập đến các phân tử axit nucleic mã hóa các kháng thể này, các trình tự của chúng và chế phẩm chứa các kháng thể này và phương pháp xác định hoặc tổng hợp các kháng thể này. Các kháng thể này có thể được dùng để chẩn đoán, phòng và/hoặc điều trị bệnh nhiễm virut cúm H3N2. Theo một phương án được ưu tiên, các kháng thể này có khả năng bảo vệ chéo đối với typ phụ virut cúm nên có thể được ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh nhiễm các typ phụ của virut cúm có nguồn gốc H3, H7, và/hoặc H10.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực dược phẩm. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến phân tử liên kết của người có khả năng trung hòa các typ phụ khác nhau của virus cúm A, bao gồm trung hòa các phân tử liên kết kháng virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H3, chẳng hạn như virus cúm H3N2. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến việc chẩn đoán, phòng và/hoặc điều trị bệnh nhiễm virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H3, cụ thể là virus cúm H3N2.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Virus cúm là orthomyxovirus ARN và bao gồm ba typ A, B và C. Trong khi virus cúm typ B và C là các tác nhân gây bệnh chủ yếu ở người, thì virus cúm A lại gây bệnh cho các loài chim và động vật có vú, bao gồm người, ngựa, động vật có vú dưới biển, lợn, chồn sương, và gà. Ở động vật, hầu hết virus cúm A gây nhiễm trùng khu trú nhẹ ở đường hô hấp và tiêu hóa. Tuy nhiên, các typ phụ virus cúm A có tính gây bệnh cao, chẳng hạn như H5N1, gây nhiễm trùng toàn thân ở gia cầm, trong đó tỷ lệ gia cầm chết có thể lên tới 100%. Một vài typ phụ của virus cúm A cũng có thể gây bệnh nặng ở người.

Virus cúm A có thể được phân loại thành các typ phụ dựa trên các biến đổi alen ở các vùng kháng nguyên của hai gen mã hóa các glycoprotein bề mặt là hemagglutinin (HA) và neuraminidase (NA), các kháng nguyên này là cần thiết để gắn virus và giải phóng tế bào. Các protein chính khác của virus bao gồm nucleoprotein, protein cấu trúc trong nucleocapsid, protein màng (M1 và M2), polymerase (PA, PB và PB2) và các protein không cấu trúc (NS1 và NS2). Hiện nay, 16 typ phụ của HA (H1-H16) và 9 biến thể kháng

nguyên của NA (N1-N9) đã được biết đến ở virus cúm A. Các typ phụ của virus cúm có thể còn được phân loại dựa vào nhóm phả hệ của chúng. Phân tích phả hệ (Fouchier et al., 2005) đã cho thấy các typ phụ của HA thuộc hai nhóm chính (Air, 1981): các typ phụ H1, H2, H5 và H9 thuộc nhóm phả hệ 1 không kể những typ khác và các typ phụ H3, H4 và H7 thuộc nhóm phả hệ 2 không kể những typ khác (Fig.1).

Chỉ một vài typ phụ của virus cúm A (tức là H1N1, H1N2 và H3N2) lưu hành ở người, nhưng toàn bộ tổ hợp của 16 typ phụ HA và 9 typ phụ NA đã được xác định ở các loài chim. Động vật bị nhiễm virus cúm A thường đóng vai trò như là ổ chứa virus cúm và các typ phụ nhất định đã được cho thấy là vượt qua rào cản loài để truyền sang người, như chủng virus cúm A H5N1 có khả năng gây bệnh cao.

Nhiễm cúm là một trong số bệnh phổ biến nhất được biết đến ở người gây ra từ ba đến năm triệu ca ốm nặng và từ 250.000 đến 500.000 ca tử vong mỗi năm trên toàn thế giới. Bệnh cúm lây lan nhanh chóng thành bệnh dịch theo mùa làm lây nhiễm từ 5 đến 15% dân số và gánh nặng chi phí chăm sóc sức khỏe cao và năng suất giảm nhiều (Tổ chức y tế thế giới (World Healthcare Organization-WHO)). Nặng viện và tử vong chủ yếu xảy ra ở nhóm có nguy cơ cao (người già, bệnh mạn tính).

Bệnh dịch cúm hàng năm xảy ra khi các đặc tính kháng nguyên của protein HA và NA trên bề mặt virus bị thay đổi. Cơ chế của tính kháng nguyên bị thay đổi gồm hai phần: tính biến đổi kháng nguyên gây bởi sự sắp xếp lại gen giữa virus ở người và động vật sau khi lây nhiễm kép vào tế bào chủ, mà có thể gây ra đại dịch; và tính biến đổi kháng nguyên gây bởi sự thay đổi nhỏ ở các protein HA và NA trên bề mặt virus, mà có thể gây bệnh dịch cúm. Sự xuất hiện các chủng virus biến thể bởi hai cơ chế này là nguyên nhân gây ra bệnh dịch cúm. Ba lần ở thế kỷ trước, virus cúm A trải qua các biến đổi di truyền chính chủ yếu ở thành phần HA của chúng, dẫn đến đại dịch toàn cầu và thiệt hại lớn cả về bệnh và số ca tử vong. Đại dịch nổi tiếng

nhất là “cúm Tây Ban Nha” gây bởi virus cúm H1N1 đã ảnh hưởng đến phần lớn dân số thế giới và được cho là làm cho ít nhất 40 triệu người chết vào năm 1918-1919. Gần đây hơn, hai đại dịch cúm A khác đã xảy ra, vào năm 1957 (“cúm châu Á” gây bởi virus cúm H2N2) và năm 1968 (“cúm Hồng Kông” gây bởi virus cúm H3N2), và gây ra tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong đáng kể trên toàn cầu. Khác với dịch bệnh cúm theo mùa hiện nay, các đại dịch này cũng liên quan đến các hậu quả nghiêm trọng ở những người trẻ khỏe mạnh.

Các phương pháp hiện nay để đối phó với dịch bệnh cúm hằng năm bao gồm tiêm chủng hằng năm, tốt hơn là tạo ra sự bảo vệ chéo khác chủng. Tuy nhiên, như được chỉ ra trên đây, các virus cúm lưu hành ở người thường xuyên bị biến đổi kháng nguyên, nên cần điều chỉnh công thức bào chế vaccin cúm hằng năm để đảm bảo tính phù hợp nhất có thể giữa các chủng vaccin cúm và các chủng cúm lưu hành.

Mặc dù việc tiêm chủng vaccin cúm hằng năm là cách tốt nhất để ngăn ngừa bệnh cúm, các thuốc kháng virus, chẳng hạn như oseltamivir (Tamiflu®) có thể hữu hiệu để phòng ngừa và điều trị bệnh cúm. Tuy nhiên, số chủng virus cúm có tính đề kháng chống lại oseltamivir này đang gia tăng.

Một phương pháp khác là phát triển các biện pháp phòng hoặc điều trị dựa trên kháng thể để trung hòa các virus cúm theo mùa khác nhau. Đích cơ bản của các kháng thể trung hòa để bảo vệ chống lại sự nhiễm virus cúm là đầu có dạng hình cầu (phần HA1) của protein HA của virus có vị trí liên kết với thụ thể, nhưng đầu này liên tục tiến hóa di truyền với sự thay thế axit amin ở vị trí liên kết với kháng thể (tính biến đổi kháng nguyên). Kháng thể trung hòa chéo nhận biết vùng thân được bảo toàn hơn của HA của virus cúm A thuộc nhóm phả hệ 1 (ví dụ, H1 và H5) đã được xác định (ví dụ, công bố đơn quốc tế số WO2008/028946). Tuy nhiên, thành công trong việc xác định các kháng thể trung hòa một hoặc nhiều typ phụ virus cúm A thuộc nhóm

phả hệ 2 như virus H3 là hạn chế và phạm vi trung hòa của chúng là hẹp và hiệu lực của chúng thấp.

Các kháng thể nhận biết đặc hiệu các chủng virus cúm H3N2 đã được mô tả. Do đó, kháng thể đơn dòng C28 của người có khả năng liên kết với và trung hòa một vài chủng virus cúm H3N2 từ các năm 1968 đến 1980 đã được mô tả bởi Östberg và Pursch (1983). Wang và các đồng tác giả (2010) đã mô tả kháng thể chuột kháng HA2 có tác dụng trung hòa các virus H3 trong một vài thập kỷ, nhưng kháng thể này được cho thấy là không trung hòa các virus typ phụ không phải H3 bất kỳ.

Các kháng thể của chuột kháng HA2 có khả năng phản ứng chéo nhận biết HA của typ phụ H3, cũng như HA của typ phụ H4 và H7, và có khả năng làm giảm sự sao chép virus cúm *in vitro* của các virus cúm H3 và H4 đã được mô tả bởi Stropkovská và các đồng tác giả, (2009). Đã chứng minh được rằng khả năng tiếp cận của các epitop HA2 tới các kháng thể này ở virus nguyên thể là thấp, và các kháng thể này có khả năng phản ứng với HA cao hơn sau khi phân cắt bằng trypsin và xử lý ở độ pH=5 (Varečková et al., 2003a), điều này có thể giải thích cho quan sát rằng tác dụng ức chế quá trình sao chép virus *in vitro* (Varečková et al., 2003b), cũng như hiệu lực *in vivo* của các kháng thể này là tương đối thấp (Gocník et al., 2007).

Trong công bố đơn quốc tế số WO2009/115972, kháng thể đơn dòng Fab28 của người đã được bộc lộ, kháng thể này nhận biết epitop trên vùng thân của HA và có hoạt tính trung hòa chống lại H1N1 nhưng có hoạt tính trung hòa thấp hơn đối với H3N2.

Dựa trên mức độ nặng của bệnh đường hô hấp do virus cúm A nhất định gây ra, và nguy cơ xảy ra đại dịch luôn luôn tiềm ẩn, dịch bệnh theo mùa cũng có tác động kinh tế cao, cần có các biện pháp hữu hiệu để phòng và điều trị các typ phụ của virus cúm A khác nhau. Do đó, cần có các phân tử liên kết, tốt hơn là các phân tử liên kết của người có khả năng trung hòa cao, có khả năng trung hòa các typ phụ của virus cúm theo mùa, bao gồm các

virut cúm chứa HA thuộc typ phụ H3, tốt hơn là H3N2, và không có nhược điểm hoặc có ít nhược điểm của các kháng thể đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Sáng chế đề cập đến các phân tử liên kết có thể được sử dụng trong dược phẩm, cụ thể là để chẩn đoán, ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh nhiễm virut cúm chứa HA thuộc typ phụ H3, tốt hơn là nhiễm virut H3N2. Một số phân tử liên kết theo sáng chế có mức hoạt tính trung hòa khác thường đối với typ phụ H3. Do đó, một số phân tử liên kết nêu ở đây có khả năng trung hòa một số chủng virut, bao gồm ít nhất một hoặc nhiều chủng gần đây thuộc các typ phụ H3N2 và có thể được sử dụng làm chất phòng và/hoặc điều trị chung đối với bệnh cúm theo mùa, bất kể chủng nguyên nhân gây cúm H3N2. Ít nhất một số phân tử liên kết có thể ngăn ngừa sự phân cắt *in vitro* phân tử tiền chất HA0 của HA bằng trypsin. Ngoài ra, ít nhất một số phân tử liên kết theo sáng chế có thể ngăn ngừa sự thay đổi cấu trúc của protein HA được cho là có liên quan đến sự dung hợp màng của màng virut cúm và màng nội thể của tế bào bị nhiễm. Ngoài ra, ít nhất một số phân tử liên kết theo sáng chế là khác thường vì chúng cũng có khả năng trung hòa chéo virut cúm thuộc ít nhất một typ phụ khác, bao gồm các virut cúm chứa HA thuộc các typ phụ H7 và/hoặc H10, và do đó có thể được sử dụng làm chất phòng, chẩn đoán và/hoặc điều trị chung đối với các virut cúm, thậm chí bất kể typ phụ của virut cúm nguyên nhân.

Sáng chế đề cập đến phân tử liên kết của người có khả năng liên kết đặc hiệu với các chủng virut cúm chứa HA thuộc typ phụ H3, bao gồm H3N2, và có hoạt tính trung hòa chống lại virut cúm này. Theo một phương án, phân tử liên kết theo sáng chế là khác thường do chúng có khả năng trung hòa một số chủng, bao gồm ít nhất một hoặc nhiều chủng mới đây, tốt hơn nữa là toàn bộ các chủng đã biết, của virut cúm typ phụ H3, typ phụ gây

dịch bệnh phổ biến nhất ở người, với hiệu lực cao. Theo một phương án, phân tử liên kết này liên kết với epitop được bảo toàn ở vùng thân của protein HA H3. Theo một phương án, phân tử liên kết có hoạt tính ức chế sự ngưng kết hồng cầu. Theo một phương án, phân tử liên kết có thể ngăn ngừa sự phân cắt *in vitro* phân tử tiền chất HA0 của HA. Theo một phương án, phân tử liên kết theo sáng chế có thể ngăn ngừa sự thay đổi cấu trúc của protein HA cần thiết để dung hợp màng của virus cúm với màng nội thể của tế bào bị nhiễm.

Sáng chế cũng đề cập đến phân tử liên kết mà liên kết với epitop trong protein haemagglutinin của các typ phụ của virus cúm thuộc nhóm phả hệ 2 có typ phụ H3 thuộc nhóm này, và do đó được dùng để chỉ phân tử liên kết phản ứng chéo giữa các typ phụ virus cúm H3, H7, và/hoặc H10, và các typ phụ của virus cúm khác chứa protein HA có các epitop cụ thể này, tốt hơn là tất cả các typ phụ thuộc nhóm phả hệ 2. Do đó, một số phân tử liên kết theo sáng chế là khác thường vì chúng có hoạt tính trung hòa chéo chống lại một hoặc nhiều typ phụ virus cúm A khác, chẳng hạn như virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H7 và/hoặc H10. Tốt hơn là, phân tử liên kết theo sáng chế có khả năng trung hòa chéo tất cả các typ phụ virus cúm của nhóm phả hệ 2, bao gồm các typ phụ H3, H7 và H10, và do đó có thể được sử dụng làm chất phòng, chẩn đoán và/hoặc điều trị chung các virus cúm thuộc nhóm phả hệ 2, thậm chí không kể typ phụ cúm gây bệnh thuộc nhóm phả hệ đó.

Đã biết rằng phân tử liên kết theo sáng chế liên kết với các epitop bảo toàn chưa được biết đến cho đến nay không dễ biến đổi kháng nguyên hoặc ít biến đổi hơn nhiều. Do đó, sáng chế cũng mô tả việc sử dụng phân tử liên kết theo sáng chế để nhận biết và/hoặc xác định đặc tính của các epitop này. Sáng chế cũng đề cập đến các phân tử axit nucleic mã hóa ít nhất vùng liên kết của các phân tử liên kết của người. Sáng chế còn mô tả việc sử dụng các phân tử liên kết của người theo sáng chế để phòng và/hoặc điều trị đối tượng bị, hoặc có nguy cơ phát triển bệnh nhiễm virus cúm H3, như nhiễm virus

cúm H3N2. Ngoài ra, sáng chế còn mô tả việc sử dụng phân tử liên kết của người theo sáng chế để chẩn đoán/phát hiện bệnh nhiễm virus cúm này.

### Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện cây phả hệ của các trình tự axit amin ở cấp độ typ phụ. Sự phân chia các typ phụ theo nhóm được thể hiện trên hình vẽ này. Nhánh H1 bao gồm các typ phụ H1 không kể các typ phụ khác, và nhánh H9 bao gồm các typ phụ H9 tạo thành nhóm phả hệ 1, và nhánh H7 bao gồm các typ phụ H7 không kể các typ phụ khác và nhánh H3 bao gồm các typ phụ H3 không kể các typ phụ khác tạo thành nhóm phả hệ 2.

Fig.2 là biểu đồ cột thể hiện sự liên kết của IgG1 với rHA H3 biểu hiện trên bề mặt được xác định bằng phương pháp phân tích FACS, sau khi xử lý lần lượt bằng trypsin (cột gạch chéo), môi trường đệm có độ pH=4,9 (cột màu trắng) và DTT (cột kẻ ô vuông) và được thể hiện dưới dạng tỷ lệ phần trăm liên kết với rHA không được xử lý (cột màu đen).

Fig.3 thể hiện các kết quả của thử nghiệm tính nhạy cảm proteaza *in vitro*. Các mẫu được thử nghiệm trên gel BisTris 4-12% trong dung dịch đệm MOPS pha loãng 1 lần. Các băng protein được quan sát bằng cách nhuộm thuốc nhuộm xanh dạng keo.

Fig.4 là sơ đồ thể hiện các cấu trúc khác nhau của protein HA trong quá trình lây nhiễm.

Fig.5 là biểu đồ cột thể hiện sự liên kết của các kháng thể đơn dòng H3 với tế bào biểu hiện HA sau khi tiến hành các biện pháp xử lý khác nhau được đánh giá bằng phân tích FACS, sau khi xử lý lần lượt bằng trypsin (cột gạch chéo), môi trường đệm có độ pH=4,9 (cột màu trắng) và DTT (cột kẻ ô vuông) và được thể hiện dưới dạng tỷ lệ phần trăm liên kết với rHA không được xử lý (cột màu đen).

Fig.6 thể hiện kết quả của thử nghiệm khoảng thời gian được mô tả trong ví dụ 11 để xác định thời gian ủ HA với trypsin để đạt được sự phân cắt HA H3.

Fig.7 thể hiện kết quả phân cắt các mẫu HA H3 bằng trypsin được ủ sơ bộ với các kháng thể đơn dòng như được mô tả trong ví dụ 11.

Fig.8 là biểu đồ cột cho thấy CR8043 ức chế sự thay đổi cấu trúc của HA H3 gây bởi độ pH.

Fig.9 cho thấy rằng CR8020 và CR8041 cũng có khả năng ức chế sự thay đổi cấu trúc của HA gây bởi độ pH: biểu đồ A. mAb được bổ sung trước khi phân cắt bằng trypsin; biểu đồ B. mAb được bổ sung sau khi phân cắt bằng trypsin; biểu đồ C. mAb được bổ sung sau tất cả các lần xử lý.

Fig.10 thể hiện đường cong xác suất sống sót Kaplan-Meier. Kháng thể được dùng qua đường tĩnh mạch vào ngày -1 trước khi thử nghiệm bằng khoảng liều từ 30 tới 1mg/kg. Ab đối chứng được dùng ở liều 30mg/kg (đường màu xám), sau đó thử nghiệm gây chết ở ngày 0 bằng liều 25 LD50 A/HK/1/68-MA20 (H3N2). CR8020 (biểu đồ A) được thử nghiệm trong một thử nghiệm riêng biệt với CR8041 (biểu đồ B) và CR8043 (biểu đồ C), hai chất này được đánh giá trong một thử nghiệm. Do đó, nhóm kháng thể đối chứng giống nhau được sử dụng đối với biểu đồ B và C.

Fig.11 thể hiện mức thay đổi thể trọng trung bình (%) so với ngày 0. Kháng thể được sử dụng qua đường tĩnh mạch vào ngày -1 trước khi thử nghiệm bằng cách sử dụng khoảng liều từ 30 tới 1mg/kg. Ab đối chứng được sử dụng ở liều 30mg/kg (đường màu xám), sau đó thử nghiệm gây chết ở ngày 0 bằng liều 25 LD50 A/HK/1/68-MA20 (H3N2). Các cột thể hiện CI 95% của giá trị trung bình. Nếu chuột bị chết/được gây chết trong quá trình tiến hành thử nghiệm, thể trọng được quan sát cuối cùng được sử dụng. CR8020 (biểu đồ A) được thử nghiệm trong một thử nghiệm riêng rẽ với CR8041 (biểu đồ B) và CR8043 (biểu đồ C), các chất này được đánh giá

trong một thử nghiệm. Do đó, nhóm kháng thể đối chứng giống nhau được sử dụng đối với biểu đồ B và C.

Fig.12 thể hiện điểm số lâm sàng trung bình. Kháng thể được dùng qua đường tĩnh mạch vào ngày -1 trước khi thử nghiệm bằng cách sử dụng khoảng liều từ 30 tới 1mg/kg. Ab đối chứng được sử dụng ở liều 30mg/kg (đường màu xám), sau đó thử nghiệm gây chết ở ngày 0 bằng liều 25 lần liều LD50 A/HK1/68-MA20 (H3N2). Các cột thể hiện khoảng tứ phân vị. CR8020 (biểu đồ A) được thử nghiệm trong thử nghiệm riêng từ CR8041 (biểu đồ B) và CR8043 (biểu đồ C), mà được đánh giá trong một thử nghiệm. Do đó, nhóm kháng thể đối chứng này được sử dụng đối với cả biểu đồ B và C. Diễn giải điểm số lâm sàng: 0 = không có dấu hiệu lâm sàng; 1 = lông bờm xồm; 2 = lông bờm xồm, phản ứng kém, thụ động trong thử nghiệm; 3 = lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, thụ động trong thử nghiệm; 4 = lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, không cuộn lại trên bụng khi nằm ngửa. Chuột được quan sát có điểm số lâm sàng bằng 4 được gây chết vào cùng ngày.

Fig.13 thể hiện hiệu quả điều trị của mAb CR8020 trong mô hình thử nghiệm gây chết chuột bằng chủng cúm A/HK/1/68-MA20 (H3N2). Một liều đơn mAb CR8020 (15mg/kg) được dùng qua đường tĩnh mạch hoặc vào ngày 1 trước khi thử nghiệm hoặc vào ngày 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6 sau khi thử nghiệm ở chuột 129X1/SvJ (n=10 con/nhóm). mAb đối chứng (15mg/kg) được dùng vào ngày 1 sau khi thử nghiệm. Chuột được thử nghiệm vào ngày 0 với liều 25 lần liều LD50 A/HK/1/68-MA20 (H3N2) và được theo dõi trong 21 ngày. Biểu đồ A: đường cong xác suất sống sót Kaplan-Meier. Biểu đồ B: mức độ thay đổi thể trọng trung bình (%) so với ngày 0. Các cột thể hiện CI 95% của giá trị trung bình. Nếu chuột bị chết/được gây chết trong quá trình tiến hành thử nghiệm này, thể trọng quan sát được lần cuối được sử dụng. Biểu đồ C: điểm số lâm sàng trung bình. Các cột thể hiện khoảng tứ phân vị. 0 = không có dấu hiệu lâm sàng; 1 = lông bờm xồm; 2 =

lông bờm xồm, phản ứng kém, thụ động trong thử nghiệm; 3 = lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, thụ động trong thử nghiệm; 4 = lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, không cuộn lại trên bụng khi nằm ngửa. Chuột được quan sát có điểm số lâm sàng bằng 4 được gây chết vào cùng ngày.

Fig.14 thể hiện hiệu quả phòng bệnh của mAb CR8020 ở mô hình thử nghiệm gây chết chuột trong đó chuột được thử nghiệm chủng cúm A/CH/NL/621557/03 (H7N7). Biểu đồ A: Đường cong xác suất sống sót Kaplan-Meier. Biểu đồ B: Mức độ thay đổi thể trọng trung bình (%) so với ngày 0. Các cột thể hiện CI 95% của giá trị trung bình. Nếu chuột bị chết/được gây chết trong quá trình nghiên cứu, thể trọng được quan sát lần cuối được sử dụng. Biểu đồ C: điểm số lâm sàng trung bình. Các cột thể hiện khoảng tứ phân vị. 0 = không có tín hiệu lâm sàng; 1 = lông bờm xồm; 2 = lông bờm xồm, phản ứng kém, thụ động trong thử nghiệm; 3 = lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, thụ động trong thử nghiệm; 4 = lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, không cuộn lại trên bụng khi nằm ngửa. Chuột được quan sát có điểm số lâm sàng bằng 4 được gây chết vào cùng ngày.

Fig.15 thể hiện hiệu quả phòng ngừa của các mAb CR8020, CR8041 và CR8043 ở mô hình thử nghiệm gây chết chuột, trong đó chuột đã thích nghi với chủng cúm A/CH/NL/621557/03 (H7N7). Các mAb được dùng qua đường tĩnh mạch vào ngày 1 trước khi thử nghiệm ở chuột cái Balb/c (n=8 con /nhóm) bằng cách sử dụng khoảng liều từ 10 tới 1mg/kg (CR8020) hoặc 30 tới 1mg/kg (CR8041 và CR8043). mAb đối chứng được dùng vào ngày 1 trước khi thử nghiệm ở liều 30mg/kg (đường màu xám). Vào ngày 0, thử nghiệm gây chết được tiến hành bằng cách cấy qua đường mũi liều bằng 25 lần LD<sub>50</sub> chuột đã thích nghi với chủng A/CH/NL/621557/03 (H7N7) và sau đó chuột được theo dõi trong 21 ngày. Biểu đồ A: Đường cong xác suất sống sót Kaplan-Meier. Biểu đồ B: Mức độ thay đổi thể trọng trung bình (%) so

với ngày 0. Các cột thể hiện CI 95% của giá trị trung bình. Nếu chuột bị chết/được gây chết trong quá trình nghiên cứu, thể trọng quan sát được lần cuối được sử dụng. Biểu đồ C: Điểm số lâm sàng trung bình. Các cột thể hiện khoảng tứ phân vị. 0 = không có tín hiệu lâm sàng; 1 = lông bờm xồm; 2 = lông bờm xồm, phản ứng kém, thụ động trong thử nghiệm; 3 = lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, thụ động trong thử nghiệm; 4 = lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, không cuộn lại trên bụng khi nằm ngửa. Chuột được quan sát có điểm số lâm sàng bằng 4 được gây chết vào cùng ngày.

Fig.16 thể hiện hiệu quả điều trị của mAb CR8020 ở mô hình thử nghiệm gây chết chuột, trong đó chuột đã thích nghi với chủng cúm A/CH/NL/621557/03 (H7N7). Một liều đơn mAb CR8020 (15mg/kg) được dùng qua đường tĩnh mạch hoặc vào ngày 1 trước khi thử nghiệm hoặc vào ngày 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6 sau khi thử nghiệm ở chuột cái Balb/c (n=8 con/nhóm). mAb đối chứng (15mg/kg) được dùng vào ngày 1 sau khi thử nghiệm. Chuột được thử nghiệm vào ngày 0 với liều 25 lần LD<sub>50</sub> ở chuột đã thích nghi với virus cúm A/CH/NL/621557/03 (H7N7) và được kiểm soát trong 21 ngày. Biểu đồ A: Đường cong xác suất sống sót Kaplan-Meier. Biểu đồ B: Mức độ thay đổi thể trọng trung bình (%) so với ngày 0. Các cột thể hiện CI 95% giá trị trung bình. Nếu chuột bị chết/được gây chết trong quá trình nghiên cứu, thể trọng được quan sát lần cuối được sử dụng. Biểu đồ C: Điểm số lâm sàng trung bình. Các cột thể hiện khoảng tứ phân vị. 0 = không có tín hiệu lâm sàng; 1 = lông bờm xồm; 2 = lông bờm xồm, phản ứng kém, thụ động trong thử nghiệm; 3 = lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, thụ động trong thử nghiệm; 4 = lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, không cuộn lại trên bụng khi nằm ngửa. Chuột được quan sát có điểm số lâm sàng bằng 4 được gây chết vào cùng ngày.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Định nghĩa các thuật ngữ như được sử dụng trong sáng chế được đưa ra dưới đây.

Thuật ngữ “bao gồm” như được sử dụng ở đây được cho là kèm theo cụm từ “không chỉ giới hạn ở”.

Như được sử dụng ở đây thuật ngữ “phân tử liên kết” được dùng để chỉ globulin miễn dịch nguyên vẹn, bao gồm các kháng thể đơn dòng, chẳng hạn như các kháng thể đơn dòng thể khảm, được làm tương thích với người hoặc của người, hoặc được dùng để chỉ vùng liên kết với kháng nguyên và/hoặc vùng biến đổi bao gồm đoạn globulin miễn dịch cạnh tranh với globulin miễn dịch nguyên vẹn để liên kết đặc hiệu với phân tử liên kết của globulin miễn dịch, ví dụ H3. Về cấu trúc, đoạn liên kết với kháng nguyên liên kết với chính kháng nguyên được nhận biết bởi globulin miễn dịch nguyên vẹn. Đoạn liên kết với kháng nguyên có thể bao gồm peptit hoặc polypeptit chứa trình tự axit amin có ít nhất 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175, 200, hoặc 250 gốc axit amin liên kế của trình tự axit amin của phân tử liên kết.

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

Các đoạn liên kết với kháng nguyên bao gồm, không kể các đoạn khác, các đoạn Fab, F(ab'), F(ab')<sub>2</sub>, Fv, dAb, Fd, vùng quyết định tính bổ trợ (complementarity determining region-CDR), kháng thể chuỗi đơn (scFv), kháng thể chuỗi đơn có hóa trị hai, các kháng thể chuỗi đơn có nguồn gốc từ thể thực khuẩn, các đoạn kháng thể nhỏ đặc hiệu kép và có hóa trị hai, kháng

thể trime, kháng thể tetrame, (poly)peptit có ít nhất một đoạn globulin miễn dịch đủ để tạo khả năng liên kết đặc hiệu kháng nguyên cho (poly)peptit này, v.v.. Các đoạn trên đây có thể được tạo ra bằng cách tổng hợp hoặc bằng cách phân cắt hóa học hoặc enzym globulin miễn dịch nguyên vẹn hoặc chúng có thể được thao tác di truyền bằng các kỹ thuật ADN tái tổ hợp. Các phương pháp tổng hợp là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: Antibodies: A Laboratory Manual, E. Harlow and D, Lane (1988), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Phân tử liên kết hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của chúng có thể có một hoặc nhiều vị trí liên kết. Nếu có nhiều hơn một vị trí liên kết, các vị trí liên kết này có thể giống nhau hoặc có thể khác nhau.

Phân tử liên kết có thể là phân tử liên kết trần hoặc không liên hợp nhưng cũng có thể là một phần của thể liên hợp miễn dịch. Phân tử liên kết trần hoặc không liên hợp được dùng để chỉ phân tử liên kết mà không được liên hợp, được liên kết khi hoạt động hoặc theo cách khác có liên quan đến nhóm hoặc đuôi hiệu ứng về mặt vật lý hoặc về mặt chức năng, chẳng hạn như chất độc, chất có hoạt tính phóng xạ, liposom, enzym. Cần hiểu rằng phân tử liên kết trần hoặc không liên hợp không loại trừ phân tử liên kết đã được làm ổn định, được multimer hóa, được làm tương thích với người hoặc được thao tác theo cách bất kỳ khác, ngoài liên kết với nhóm hoặc đuôi hiệu ứng. Do đó, tất cả các phân tử liên kết trần và không được liên hợp được cải biến sau dịch mã được bao gồm kèm theo đây, bao gồm các phân tử trong đó các cải biến được tạo ra trong môi trường tế bào tổng hợp phân tử liên kết tự nhiên bởi tế bào tổng hợp phân tử liên kết tái tổ hợp, và được đưa vào bằng cách thủ công sau khi tạo ra phân tử liên kết ban đầu. Tất nhiên, thuật ngữ phân tử liên kết trần hoặc không liên hợp không loại trừ khả năng phân tử liên kết này tạo thành các liên kết chức năng với các tế bào và/hoặc các phân tử hiệu ứng sau khi sử dụng cho cơ thể, vì một số tương tác này là cần thiết

để tạo ra tác dụng sinh học. Do đó, sự thiếu nhóm hoặc đuôi hiệu ứng liên quan được sử dụng để định nghĩa phân tử liên kết trần hoặc không liên hợp *in vitro*, không *in vivo*.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “mẫu sinh học” bao gồm nhiều loại mẫu, bao gồm mẫu máu và các mẫu chất lỏng khác có nguồn gốc sinh học, mẫu mô rắn như mẫu sinh thiết hoặc các mẫu nuôi cấy mô, hoặc tế bào có nguồn gốc từ đó và thế hệ con của chúng. Thuật ngữ này cũng bao gồm các mẫu được thao tác theo cách bất kỳ sau khi thu mẫu, chẳng hạn như bằng cách xử lý bằng các chất phản ứng, làm hòa tan, hoặc làm giàu các thành phần nhất định, chẳng hạn như các protein hoặc polynucleotit. Thuật ngữ này bao gồm các loại mẫu lâm sàng khác nhau thu được từ loài bất kỳ, và cũng bao gồm các tế bào trong môi trường nuôi cấy, dịch nổi tế bào hoặc dịch tan tế bào.

Thuật ngữ “vùng quyết định bổ sung” (CDR) như được sử dụng ở đây có nghĩa là các trình tự trong các vùng biến đổi của phân tử liên kết, chẳng hạn như các globulin miễn dịch, các globulin miễn dịch này thường chủ yếu tạo ra vị trí liên kết kháng nguyên có tính bổ sung về hình dạng và phân bố điện tích với epitop được nhận biết trên kháng nguyên. Các vùng CDR có thể đặc hiệu với epitop thẳng, epitop gián đoạn, hoặc epitop cấu trúc của các protein hoặc các đoạn protein, hoặc khi có mặt trên protein có cấu hình tự nhiên của nó hoặc, trong một vài trường hợp, khi có mặt trên protein dưới dạng biến tính, ví dụ bằng cách hòa tan trong SDS. Các epitop cũng có thể bao gồm các cải biến sau dịch mã của protein.

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

Thuật ngữ “trình tự axit nucleic điều hòa sự biểu hiện” như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ các trình tự polynucleotit cần thiết đối với

và/hoặc ảnh hưởng đến sự biểu hiện của trình tự mã hóa được liên kết khi hoạt động ở sinh vật chủ cụ thể. Các trình tự axit nucleic điều hòa sự biểu hiện, chẳng hạn như các trình tự khởi đầu, kết thúc phiên mã, trình tự khởi đầu, trình tự tăng cường; trình tự ức chế hoặc trình tự hoạt hóa; các tín hiệu xử lý ARN hữu hiệu chẳng hạn như tín hiệu ghép nối và tín hiệu polyadenyl hóa; các trình tự mà làm ổn định ARN thông tin của tế bào chất; các trình tự mà làm tăng hiệu quả dịch mã (ví dụ, vị trí liên kết ribosom), các trình tự làm tăng độ ổn định protein; và nếu muốn, các trình tự làm tăng tiết protein, có thể là trình tự axit nucleic bất kỳ có hoạt tính trong sinh vật chủ được chọn và có thể có nguồn gốc từ các gen mã hóa protein cùng nguồn gốc hoặc khác nguồn gốc với sinh vật chủ. Việc xác định và sử dụng các trình tự điều hòa sự biểu hiện là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Thuật ngữ “biến thể chức năng” như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ phân tử liên kết bao gồm trình tự nucleotit và/hoặc trình tự axit amin bị biến đổi một hoặc nhiều nucleotit và/hoặc axit amin so với trình tự nucleotit và/hoặc trình tự axit amin của phân tử liên kết đối chứng và vẫn có khả năng cạnh tranh với phân tử liên kết đối chứng để liên kết với phân tử liên kết, ví dụ, H3N2. Nói cách khác, các cải biến về trình tự axit amin và/hoặc nucleotit của phân tử liên kết đối chứng không làm ảnh hưởng hoặc làm thay đổi đáng kể các đặc tính liên kết của phân tử liên kết được mã hóa bởi trình tự nucleotit hoặc chứa trình tự axit amin, tức là, phân tử liên kết này vẫn có khả năng nhận biết và liên kết với đích của nó. Biến thể chức năng có thể có các cải biến trình tự bảo toàn bao gồm thay thế, thêm hoặc mất nucleotit và axit amin. Các cải biến này có thể được tiến hành bằng các kỹ thuật chuẩn đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, chẳng hạn như gây đột biến định hướng vị trí và gây đột biến ngẫu nhiên qua trung gian PCR, và có thể bao gồm các nucleotit và axit amin tự nhiên hoặc không tự nhiên.

Các thay thế axit amin bảo toàn bao gồm các thay thế trong đó gốc axit amin được thay thế bằng gốc axit amin có các đặc tính cấu trúc hoặc hóa học tương tự. Họ các gốc axit amin có mạch bên tương tự đã được mô tả trong lĩnh vực này. Các họ này bao gồm các axit amin có các mạch bên có tính bazơ (ví dụ, lysin, arginin, histidin), mạch bên có tính axit (ví dụ, axit aspartic, axit glutamic), mạch bên phân cực không mang điện tích (ví dụ, asparagin, glutamin, serin, threonin, tyrosin, xystein, tryptophan), mạch bên không phân cực (ví dụ, glyxin, alanin, valin, leuxin, isoleuxin, prolin, phenylalanin, methionin), mạch bên phân nhánh beta (ví dụ, threonin, valin, isoleuxin) và mạch bên thơm (ví dụ, tyrosin, phenylalanin, tryptophan). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ thấy rõ là các cách phân loại họ gốc axit amin khác ngoài cách sử dụng trên đây cũng có thể được sử dụng. Ngoài ra, biến thể có thể có các thay thế axit amin không bảo toàn, ví dụ thay thế axit amin bằng gốc axit amin có các đặc tính hóa học hoặc cấu trúc khác nhau. Các biến đổi nhỏ tương tự cũng có thể bao gồm sự mất hoặc thêm axit amin, hoặc cả hai sự biến đổi này. Hướng dẫn xác định gốc axit amin nào có thể được thay thế, được thêm, hoặc mất mà không làm mất hoạt tính miễn dịch có thể được tìm thấy nhờ các chương trình máy tính đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Sự đột biến trong trình tự nucleotit có thể là sự thay đổi đơn ở một locut (đột biến điểm), chẳng hạn như các đột biến đồng hoán hoặc dị hoán, hoặc theo cách khác, nhiều nucleotit có thể được thêm, mất hoặc thay đổi ở một locut. Ngoài ra, một hoặc nhiều thay đổi có thể được tạo ra ở một số locut bất kỳ trong trình tự nucleotit. Các đột biến này có thể được thực hiện bằng phương pháp thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Thuật ngữ “typ phụ của virus cúm” như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ các biến thể virus cúm A được đặc trưng bởi sự kết hợp khác nhau của các protein hemagglutinin (H) và neuramidaza (N) trên bề mặt của virus. Theo sáng chế, typ phụ của virus cúm có thể được dùng để chỉ số H

của chúng, như ví dụ “virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H3”, hoặc “cúm H3”, hoặc bằng cách kết hợp số H và số N, chẳng hạn như “typ phụ H3N2 của virus cúm” hoặc “H3N2”. Thuật ngữ “typ phụ” đặc biệt bao gồm tất cả “các chủng” riêng biệt trong mỗi typ phụ, chúng thường thu được từ sự đột biến và có kiểu sinh bệnh khác nhau. Các chủng này cũng có thể được dùng để chỉ “các chủng phân lập” khác nhau của typ phụ virus. Do đó, như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “chủng” và “chủng phân lập” có thể được sử dụng thay thế cho nhau. Danh pháp hiện nay của các chủng virus cúm ở người hoặc các chủng phân lập bao gồm vị trí địa lý của nơi phân lập đầu tiên, số chủng và năm phân lập, thường kèm mô tả kháng nguyên HA và NA được đặt trong dấu ngoặc, ví dụ A/Moscow/10/00 (H3N2). Các chủng không phải của người cũng bao gồm vật chủ ban đầu trong danh pháp.

Các typ phụ virus cúm có thể còn được phân loại bằng cách dựa vào nhóm phả hệ của chúng. Phân tích phả hệ (Fouchier et al., 2005) đã chứng minh sự phân loại phụ các HA thành hai nhóm chính (Air, 1981): các typ phụ H1, H2, H5 và H9 không kể các typ phụ khác trong nhóm phả hệ 1 và các typ phụ H3, H4 và H7 không kể các typ phụ khác trong nhóm phả hệ 2 (Fig.1).

Thuật ngữ “trung hòa” như được sử dụng ở đây có liên quan đến phân tử liên kết theo sáng chế được dùng để chỉ phân tử liên kết có tác dụng ức chế virus cúm lây nhiễm sao chép vào tế bào đích, bất kể cơ chế đạt được sự trung hòa. Do đó, sự trung hòa có thể đạt được bằng cách ức chế sự liên kết virus với bề mặt tế bào, hoặc bằng cách ức chế sự dung hợp màng virus và màng tế bào sau khi virus liên kết vào tế bào đích, và cách tương tự.

Thuật ngữ “trung hòa chéo” như được sử dụng ở đây có liên quan đến phân tử liên kết theo sáng chế được dùng để chỉ khả năng phân tử liên kết theo sáng chế trung hòa virus cúm A thuộc các typ phụ khác nhau, chẳng hạn như ví dụ virus cúm bao gồm HA của typ phụ H3, H7 và/hoặc H10.

Thuật ngữ “vật chủ” như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ sinh vật hoặc tế bào mà vector chẳng hạn như vector tách dòng hoặc vector biểu hiện được đưa vào. Sinh vật hoặc tế bào này có thể là sinh vật hoặc tế bào không nhân hoặc có nhân thực. Tốt hơn nếu vật chủ là tế bào chủ được phân lập, ví dụ tế bào chủ trong môi trường nuôi cấy. Thuật ngữ “tế bào chủ” chỉ có nghĩa là các tế bào được cải biến để biểu hiện quá mức phân tử liên kết theo sáng chế và bao gồm các tế bào B biểu hiện đầu tiên các phân tử liên kết này và các tế bào được cải biến để biểu hiện quá mức phân tử liên kết bằng cách làm bất tử, khuếch đại, làm tăng sự biểu hiện v.v.. Cần hiểu rằng thuật ngữ vật chủ không chỉ được dùng để chỉ sinh vật hoặc tế bào chủ cụ thể mà còn để chỉ cả thế hệ con của sinh vật hoặc tế bào này. Vì các cải biến nhất định có thể xảy ra ở thế hệ kế tiếp do đột biến hoặc tác động của môi trường, thực tế thế hệ con này có thể không giống với sinh vật hoặc tế bào bố mẹ, nhưng vẫn được bao gồm trong phạm vi thuật ngữ “vật chủ” như được sử dụng ở đây.

Thuật ngữ “người” khi được áp dụng cho phân tử liên kết như được định nghĩa ở đây được dùng để chỉ phân tử mà hoặc thu được trực tiếp từ người hoặc dựa trên trình tự của người. Nếu phân tử liên kết thu được từ hoặc dựa trên trình tự của người và sau đó được cải biến, thì phân tử này vẫn được coi là có nguồn gốc từ người như được sử dụng trong bản mô tả. Nói cách khác, thuật ngữ người khi được áp dụng cho phân tử liên kết được dự định bao gồm phân tử liên kết có các vùng biến đổi và hằng định thu được từ các trình tự globulin miễn dịch dòng tế bào mầm của người hoặc dựa trên các vùng biến đổi hoặc hằng định có nguồn gốc từ tế bào lympho của người và được cải biến ở một vài dạng. Do đó, phân tử liên kết của người có thể bao gồm các gốc axit amin không được mã hóa bởi các trình tự globulin miễn dịch của dòng tế bào mầm của người, bao gồm các thay thế và/hoặc mất đoạn (ví dụ, các đột biến được đưa vào bằng cách gây đột biến đặc hiệu vị trí hoặc ngẫu nhiên *in vitro* hoặc đột biến soma *in vivo*). Thuật ngữ “dựa

trên” như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ trường hợp mà một trình tự axit nucleic có thể được sao chép chính xác từ khuôn mẫu, hoặc có các cải biến nhỏ, chẳng hạn như phương pháp PCR dễ mắc lỗi, hoặc được làm khớp chính xác với khuôn mẫu bằng cách tổng hợp hoặc có các cải biến nhỏ. Các phân tử bán tổng hợp dựa trên các trình tự của người cũng được coi là của người như được sử dụng ở đây.

Thuật ngữ “chèn”, còn được gọi là “thêm”, để chỉ sự thay đổi ở trình tự axit amin hoặc nucleotit dẫn đến sự thêm một hoặc nhiều gốc axit amin hoặc nucleotit tương ứng so với trình tự gốc.

Thuật ngữ “được phân lập” khi được sử dụng cho phân tử liên kết như được định nghĩa ở đây được dùng để chỉ phân tử liên kết hầu như không chứa các protein hoặc các polypeptit khác, cụ thể là không chứa các phân tử liên kết khác có các tính đặc hiệu kháng nguyên khác nhau, và cũng hầu như không chứa nguyên liệu tế bào và/hoặc các chất hóa học khác. Ví dụ, nếu các phân tử liên kết được tổng hợp bằng cách tái tổ hợp, tốt hơn là các phân tử này hầu như không chứa các thành phần của môi trường nuôi cấy, và nếu các phân tử liên kết được tổng hợp bằng cách tổng hợp hóa học, tốt hơn là chúng hầu như không chứa các tiền chất hóa học hoặc các chất hóa học khác, tức là, chúng được tách ra khỏi các tiền chất hóa học hoặc các chất hóa học khác tham gia vào quá trình tổng hợp protein. Thuật ngữ “phân lập” nếu được áp dụng cho phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết như được định nghĩa ở đây được dùng để chỉ các phân tử axit nucleic, trong đó các trình tự nucleotit mã hóa phân tử liên kết không chứa các trình tự nucleotit khác, cụ thể là các trình tự nucleotit mã hóa phân tử liên kết để liên kết các phân tử liên kết không phải H5N1. Ngoài ra, thuật ngữ “phân lập” được dùng để chỉ các phân tử axit nucleic gần như được tách ra khỏi các thành phần tế bào khác đi kèm tự nhiên với các phân tử axit nucleic tự nhiên trong vật chủ tự nhiên của nó, ví dụ, ribosom, polymeraza, hoặc các trình tự hệ gen mà nó liên kết tự nhiên. Ngoài ra, các phân tử axit nucleic “được phân lập”, chẳng hạn như các phân

tử ADN bổ trợ, hầu như không chứa chất tế bào khác, hoặc môi trường nuôi cấy nếu được tổng hợp bằng các kỹ thuật tái tổ hợp, hoặc hầu như không chứa các tiền chất hóa học hoặc các chất hóa học khác nếu được tổng hợp bằng phương pháp hóa học.

Thuật ngữ “kháng thể đơn dòng” như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ chế phẩm chứa các phân tử kháng thể có tính đặc hiệu đơn. Kháng thể đơn dòng có tính đặc hiệu liên kết đơn và ái lực đối với epitop cụ thể. Do đó, thuật ngữ “kháng thể đơn dòng của người” được dùng để chỉ kháng thể có tính đặc hiệu liên kết đơn có các vùng biến đổi và hằng định thu được từ hoặc dựa trên các trình tự globulin miễn dịch của dòng tế bào mầm của người hoặc thu được từ các trình tự tổng hợp hoàn toàn. Phương pháp điều chế kháng thể đơn dòng là không phù hợp đối với tính đặc hiệu liên kết.

Thuật ngữ “có nguồn gốc tự nhiên” như được sử dụng ở đây được áp dụng cho trường hợp đối tượng có thể được tìm thấy trong tự nhiên. Ví dụ, trình tự polypeptit hoặc polynucleotit có mặt trong sinh vật có thể được phân lập từ nguồn trong tự nhiên và không được cải biến một cách chủ ý bởi con người trong phòng thí nghiệm là có nguồn gốc trong tự nhiên.

Thuật ngữ “phân tử axit nucleic” như được sử dụng trong sáng chế được dùng để chỉ dạng polyme của các nucleotit và bao gồm cả các sợi đối nghĩa và có nghĩa của ARN, ADN bổ trợ, ADN hệ gen, và các dạng tổng hợp và các polyme hỗn hợp của các thành phần trên đây. Nucleotit được dùng để chỉ ribonucleotit, deoxynucleotit hoặc dạng cải biến của cả hai loại nucleotit này. Thuật ngữ này cũng bao gồm các dạng ADN sợi đơn hoặc sợi kép. Ngoài ra, polynucleotit có thể bao gồm một trong hai hoặc cả hai nucleotit đã cải biến và có nguồn gốc gốc tự nhiên được liên kết với nhau bằng các liên kết nucleotit có nguồn gốc tự nhiên và/hoặc không có nguồn gốc tự nhiên. Các phân tử axit nucleic có thể được cải biến về mặt hóa học hoặc sinh hóa hoặc có thể chứa các bazơ nucleotit được tạo ra hoặc không có nguồn gốc tự nhiên, như đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong

lĩnh vực kỹ thuật này. Các cải biến này bao gồm, ví dụ, các nguyên tử đánh dấu, metyl hóa, thay thế một hoặc nhiều nucleotit có nguồn gốc tự nhiên bằng chất tương tự, các cải biến giữa các nucleotit như các liên kết không mang điện tích (ví dụ, metyl phosphonat, phosphotrieste, phosphoramidat, carbamat, v.v.), các liên kết mang điện tích (ví dụ, phosphorothioat, phosphorodithioat, v.v.), các gốc nhô ra ngoài (ví dụ, polypeptit), chất xen kẽ (ví dụ, acridin, psoralen, v.v.), chất tạo chelat, chất alkyl hóa, và các liên kết được cải biến (ví dụ, axit nucleic anome alpha, v.v.). Thuật ngữ trên đây cũng được dùng để chỉ cấu hình topo bất kỳ, bao gồm cấu trúc sợi đơn, sợi kép, ghép đôi một phần, ghép ba, được kẹp tóc, các cấu trúc hình tròn và cấu trúc khóa móc. Thuật ngữ này cũng bao gồm các phân tử tổng hợp bất chước polynucleotit về khả năng liên kết với trình tự được thiết kế thông qua liên kết hydro và các tương tác hóa học khác. Các phân tử này là đã biết trong lĩnh vực này và bao gồm, ví dụ, các phân tử trong đó các liên kết peptit thay thế cho các liên kết phosphat trong khung chính của phân tử này. Khi nói tới trình tự axit nucleic sẽ bao gồm trình tự bổ sung của nó trừ khi được chỉ rõ theo cách khác. Do đó, phân tử axit nucleic có trình tự cụ thể cần được hiểu là bao gồm sợi bổ sung của nó, và trình tự bổ sung của nó. Sợi bổ sung cũng là hữu dụng đối với liệu pháp đối nghĩa, các mẫu dò lai và các đoạn môi PCR.

Thuật ngữ “liên kết khi hoạt động” được dùng để chỉ hai hoặc nhiều thành phần của trình tự axit nucleic thường liên kết vật lý và có mối quan hệ chức năng với nhau. Ví dụ, trình tự khởi đầu được liên kết khi hoạt động với trình tự mã hóa, nếu trình tự khởi đầu này có khả năng khởi đầu hoặc điều hòa quá trình phiên mã hoặc biểu hiện trình tự mã hóa, trong đó trình tự mã hóa này được hiểu là “dưới sự kiểm soát của” trình tự khởi đầu.

Thuật ngữ “tá được được dụng” để chỉ chất trợ được trộn với phân tử có hoạt tính như được chất, chất, hoặc phân tử liên kết để điều chế dạng liều thích hợp. Thuật ngữ “tá được được dụng” là tá được mà không độc với

người nhận ở liều và nồng độ sử dụng, và tương hợp với các thành phần khác của chế phẩm chứa dược chất, chất hoặc phân tử liên kết. Tá dược được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ “liên kết đặc hiệu” như được sử dụng ở đây khi nói tới sự tương tác giữa phân tử liên kết, ví dụ kháng thể, và phân tử liên kết với nó, ví dụ kháng nguyên, có nghĩa là sự tương tác này phụ thuộc vào sự có mặt cấu trúc cụ thể, ví dụ quyết định kháng nguyên hoặc epitop, trên phân tử liên kết với nó. Nói cách khác, kháng thể này ưu tiên liên kết hoặc nhận biết phân tử liên kết với nó ngay cả khi phân tử liên kết với nó có mặt trong hỗn hợp các phân tử hoặc sinh vật khác. Sự liên kết này có thể được tạo thành bởi các tương tác cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị hoặc hỗn hợp của hai tương tác này. Nói cách khác nữa, thuật ngữ “liên kết đặc hiệu” có nghĩa là liên kết đặc hiệu miễn dịch với quyết định kháng nguyên hoặc epitop và không liên kết đặc hiệu miễn dịch với các quyết định kháng nguyên hoặc epitop khác. Phân tử liên kết mà liên kết đặc hiệu miễn dịch với kháng nguyên có thể liên kết với các peptit hoặc polypeptit khác với ái lực thấp hơn như được xác định bằng thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (radioimmunoassays-RIA), thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (enzyme-linked immunosorbent assays-ELISA), BIACORE, hoặc thử nghiệm khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Phân tử liên kết hoặc các đoạn của chúng mà liên kết đặc hiệu miễn dịch với kháng nguyên có thể phản ứng chéo với các kháng nguyên có liên quan mang cùng epitop. Tốt hơn là phân tử liên kết hoặc các đoạn của chúng mà liên kết đặc hiệu miễn dịch với kháng nguyên không phản ứng chéo với các kháng nguyên khác.

Thuật ngữ “thay thế” như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ sự thay thế một hoặc nhiều axit amin hoặc nucleotit bằng các axit amin hoặc nucleotit khác tương ứng.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu để điều trị” được dùng để chỉ lượng phân tử liên kết như được xác định ở đây hữu hiệu để ngăn ngừa, làm thuyên giảm

và/hoặc điều trị tình trạng bệnh do nhiễm virus cúm typ phụ H3. Thuật ngữ làm thuyên giảm như được sử dụng ở đây có thể được dùng để chỉ việc làm giảm các triệu chứng bệnh nhìn thấy được hoặc cảm nhận được, lượng virus huyết, hoặc biểu hiện nhiễm cúm bất kỳ khác có thể xác định được.

Thuật ngữ “điều trị” được dùng để chỉ việc điều trị cũng như là các phương pháp ngăn ngừa hoặc dự phòng để điều trị hoặc làm dừng hoặc ít nhất là làm chậm sự tiến triển của bệnh. Các đối tượng cần điều trị bao gồm các đối tượng đã bị tình trạng bệnh do nhiễm virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H3 cũng như là các đối tượng trong đó cần ngăn ngừa sự nhiễm virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H3. Các đối tượng phục hồi một phần hoặc hoàn toàn sau khi bị nhiễm virus cúm H3 cũng có thể cần điều trị. Việc phòng ngừa bao gồm ức chế hoặc làm giảm sự lây lan virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H3 hoặc ức chế hoặc làm giảm sự khởi phát, sự phát triển hoặc tiến triển một hoặc nhiều triệu chứng có liên quan đến nhiễm virus cúm H3.

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

đưa vào (ví dụ, vector có điểm khởi đầu sao chép của vi khuẩn có thể sao chép trong vi khuẩn). Các vector khác có thể được kết hợp vào hệ gen của vật chủ sau khi đưa vào vật chủ, và do đó được sao chép cùng với hệ gen của vật chủ.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến phân tử liên kết có khả năng liên kết đặc hiệu với và có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm A, cụ thể là virus cúm A chứa HA thuộc typ phụ H3, cụ thể là H3N2. Tốt hơn nếu phân tử liên kết là phân tử liên kết của người. Theo một phương án, phân tử liên kết theo sáng chế có khả năng liên kết đặc hiệu với và/hoặc có hoạt tính trung hòa chống lại một vài chủng virus cúm H3N2, tốt hơn là hai hoặc nhiều chủng H3N2 khác nhau, tốt hơn nữa là ba hoặc nhiều chủng H3N2 khác nhau, tốt hơn nữa nếu bốn hoặc nhiều chủng H3N2 khác nhau, tốt hơn nữa là năm hoặc nhiều chủng H3N2 khác nhau. Các chủng này có thể thu được từ cả người hoặc động vật không phải người, ví dụ chim. Theo một phương án, phân tử liên kết này liên kết với và trung hòa ít nhất một hoặc nhiều chủng H3N2 gần đây được chọn từ nhóm bao gồm A/Wisconsin/67/2005, A/Hiroshima/52/2005, A/Panama/2007/99, và A/Johannesburg/33/94. Theo một phương án khác, phân tử liên kết cũng liên kết với và trung hòa chủng H3N2 A/Hong Kong/1/68. Tốt nhất nếu phân tử liên kết này liên kết với và có hoạt tính trung hòa chống lại tất cả các chủng cúm H3N2 từ các năm 1968 đến 2005. Tốt hơn nếu phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa chống lại ít nhất tất cả các chủng phân lập có nguồn gốc tự nhiên của virus cúm H3N2 được biết trước ngày 20.1.2010.

Phân tử liên kết theo sáng chế có thể có khả năng liên kết đặc hiệu với cấu trúc dưới phân tử HA0, HA1 và/hoặc HA2 của protein HA. Chúng có thể có khả năng liên kết đặc hiệu với các epitop thẳng hoặc cấu trúc và/hoặc cấu hình trên cấu trúc dưới phân tử HA0, HA1 và/hoặc HA2 của protein HA. Phân tử HA có thể được tinh chế từ các virus hoặc được tổng hợp bằng cách tái tổ hợp và tùy ý được phân lập trước khi sử dụng. Theo cách khác, HA có

thể được biểu hiện trên bề mặt của tế bào. Tốt hơn nếu phân tử liên kết theo sáng chế liên kết với epitop chứa một hoặc nhiều axit amin ở vị trí 19, 25, 27, 33 và 34 của polypeptit HA2 của protein HA H3. Theo một phương án, phân tử liên kết theo sáng chế liên kết với epitop này trên HA2, nếu axit amin ở vị trí 19 là axit aspartic (D), axit amin ở vị trí 25 là glutamin (Q), axit amin ở vị trí 27 là glyxin (G), axit amin ở vị trí 33 là glyxin (G) và/hoặc axit amin ở vị trí 34 là glutamin (đánh số HA2 bắt đầu ở vị trí 1 chỉ sau gốc arginin mà tạo vị trí phân cắt nằm giữa HA1 và HA2). Theo một phương án, phân tử liên kết không liên kết với epitop này trên HA2 nếu một hoặc nhiều axit amin này thay đổi.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phân tử liên kết có thể ngăn ngừa sự phân cắt bằng trypsin phân tử tiền chất HA0 của HA của virus H3 ở HA1 và HA2, ít nhất là *in vitro*.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phân tử liên kết có thể ngăn ngừa sự thay đổi cấu trúc của protein HA của H3 cần thiết để dung hợp màng virus cúm và màng nội thể của tế bào bị nhiễm, ít nhất là *in vitro*.

Theo một khía cạnh khác, phân tử liên kết có một số hoặc tất cả các đặc tính nêu trên, tức là có hoạt tính trung hòa chéo, liên kết với epitop bảo toàn trên vùng thân của HA2, ức chế sự phân cắt HA0 bằng trypsin *in vitro*, và/hoặc ức chế sự thay đổi cấu trúc.

Theo một phương án, phân tử liên kết theo sáng chế có tất cả hoặc một vài đặc tính trên đây và ngoài ra, không thể liên kết với và/hoặc trung hòa virus cúm A chứa HA thuộc typ phụ H1, chẳng hạn như H1N1.

Phân tử liên kết theo sáng chế có khả năng liên kết đặc hiệu với virus cúm H3N2 có thể sống sót, đang sống và/hoặc gây nhiễm hoặc ở dạng bất hoạt/giảm độc lực. Các phương pháp bất hoạt/làm giảm độc lực virus, ví dụ virus cúm H3N2, là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, xử lý bằng formalin,  $\beta$ -propiolacton (BPL), merthiolat, và/hoặc ánh sáng tử ngoại.

Phân tử liên kết theo sáng chế cũng có thể có khả năng liên kết đặc hiệu với một hoặc nhiều đoạn của virus cúm, như chế phẩm chứa một hoặc nhiều protein và/hoặc (poly)peptit thu được từ typ phụ H3N2 hoặc một hoặc nhiều protein và/hoặc polypeptit của H3N2 được tổng hợp bằng cách tái tổ hợp. Đối với các phương pháp phòng và/hoặc điều trị bệnh nhiễm H3N2, tốt hơn nếu phân tử liên kết có khả năng liên kết đặc hiệu với các protein dễ xâm nhập ở bề mặt của H3N2, chẳng hạn như glycoprotein bề mặt, hemagglutinin (HA) cần thiết để gắn virus và giải phóng vào tế bào.

Trình tự nucleotit và/hoặc trình tự axit amin của protein của các chủng H3N2 khác nhau có thể được tìm thấy trong cơ sở dữ liệu của ngân hàng gen, cơ sở dữ liệu trình tự của virus cúm NCBI, cơ sở dữ liệu trình tự của virus cúm ISD, cơ sở dữ liệu EMBL và/hoặc các cơ sở dữ liệu khác. Chuyên gia trong lĩnh vực này đã tìm ra các trình tự này trong các cơ sở dữ liệu tương ứng.

Theo một phương án khác, phân tử liên kết theo sáng chế có khả năng liên kết đặc hiệu với một đoạn của các protein và/hoặc polypeptit nêu trên, trong đó đoạn này ít nhất chứa epitop được nhận biết bởi phân tử liên kết theo sáng chế. "Epitop" như được sử dụng ở đây là đoạn có khả năng liên kết với phân tử liên kết theo sáng chế có ái lực đủ cao để tạo phức hợp phân tử liên kết kháng nguyên có thể phát hiện được.

Phân tử liên kết theo sáng chế có thể hoặc không thể liên kết đặc hiệu với phần ngoại bào của HA (còn được gọi ở đây là HA hòa tan (sHA)).

Phân tử liên kết theo sáng chế có thể là các phân tử globulin miễn dịch nguyên vẹn như kháng thể đơn dòng hoặc đa dòng hoặc phân tử liên kết có thể là đoạn liên kết với kháng nguyên bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Fab, F(ab'), F(ab')<sub>2</sub>, Fv, dAb, Fd, các đoạn vùng quyết định tính bổ trợ (CDR), các kháng thể chuỗi đơn (scFv), kháng thể chuỗi đơn hóa trị hai, kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn, các đoạn kháng thể nhỏ đặc hiệu kép và có hóa trị hai, kháng thể trimer, kháng thể tetramer, và (poly)peptit chứa ít

nhất một đoạn globulin miễn dịch đủ để tạo ra sự liên kết đặc hiệu kháng nguyên với các chủng virus cúm H3N2 hoặc đoạn của chúng. Theo một phương án được ưu tiên, phân tử liên kết theo sáng chế là các kháng thể đơn dòng của người.

Phân tử liên kết theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng được phân lập hoặc không được phân lập. Hơn thế nữa, phân tử liên kết theo sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc ở dạng hỗn hợp chứa ít nhất một phân tử liên kết (hoặc biến thể hoặc đoạn của nó) theo sáng chế. Nói cách khác, phân tử liên kết có thể được sử dụng ở dạng kết hợp, ví dụ, ở dạng được phẩm chứa hai hoặc nhiều phân tử liên kết theo sáng chế, biến thể hoặc đoạn của chúng. Ví dụ, phân tử liên kết có hoạt tính khác nhau nhưng bổ trợ cho nhau có thể được kết hợp trong liệu pháp đơn để đạt được tác dụng phòng, điều trị hoặc chẩn đoán mong muốn, nhưng theo cách khác, phân tử liên kết có hoạt tính giống nhau cũng có thể được kết hợp trong liệu pháp đơn để đạt được tác dụng phòng, điều trị hoặc chẩn đoán mong muốn. Theo cách tùy ý, hỗn hợp này còn chứa ít nhất một chất điều trị khác. Tốt hơn nếu chất điều trị như chất ức chế M2 (ví dụ, amantidin, rimantadin) và/hoặc chất ức chế neuraminidaza (ví dụ, zanamivir, oseltamivir) là hữu dụng để phòng và/hoặc điều trị bệnh nhiễm virus cúm H3N2.

Thông thường, phân tử liên kết theo sáng chế có thể liên kết với phân tử liên kết với nó, tức là virus cúm H3N2 hoặc các đoạn của nó, với hằng số ái lực (giá trị  $K_d$ ) thấp hơn  $0,2 \times 10^{-4}M$ ,  $1,0 \times 10^{-5}M$ ,  $1,0 \times 10^{-6}M$ ,  $1,0 \times 10^{-7}M$ , tốt hơn nếu thấp hơn  $1,0 \times 10^{-8}M$ , tốt hơn nữa là thấp hơn  $1,0 \times 10^{-9}M$ , tốt hơn nữa nếu thấp hơn  $1,0 \times 10^{-10}M$ , thậm chí tốt hơn nữa nếu thấp hơn  $1,0 \times 10^{-11}M$ , và cụ thể là thấp hơn  $1,0 \times 10^{-12}M$ . Hằng số ái lực đối với các isotyp kháng thể có thể khác nhau. Ví dụ, ái lực liên kết đối với isotyp IgM để chỉ ái lực liên kết ít nhất là  $1,0 \times 10^{-7}M$ . Hằng số ái lực có thể được đo bằng phương pháp cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ bằng cách sử dụng thiết bị BIACORE (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Thụy Điển).

Thông thường, phân tử liên kết theo sáng chế có hoạt tính trung hòa nhỏ hơn hoặc bằng 10µg/ml, tốt hơn là nhỏ hơn hoặc bằng 5µg/ml, tốt hơn nữa là nhỏ hơn hoặc bằng 2µg/ml, thậm chí tốt hơn nữa là nhỏ hơn hoặc bằng 1µg/ml như được xác định trong thử nghiệm trung hòa virus *in vitro* (virus neutralization assay-VNA) được mô tả trong ví dụ 6.

Phân tử liên kết theo sáng chế có thể liên kết với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó ở dạng hòa tan như ví dụ trong mẫu hoặc trong huyền phù hoặc có thể liên kết với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó liên kết với chất mang hoặc cơ chất, ví dụ, đĩa vi chuẩn, màng và hạt. Chất mang hoặc cơ chất có thể được làm từ thủy tinh, nhựa (ví dụ, polystyren), polysacarit, nylon, nitroxenluloza, hoặc Teflon, v.v.. Bề mặt của các chất mang này có thể là rắn hoặc xốp và có hình dạng thích hợp. Hơn thế nữa, phân tử liên kết có thể liên kết với virus cúm H3N2 ở dạng đã tinh chế/phân lập hoặc dạng không tinh chế/không phân lập.

Phân tử liên kết theo sáng chế có hoạt tính trung hòa. Hoạt tính trung hòa có thể được xác định như được mô tả ở đây. Các thử nghiệm khác để xác định hoạt tính trung hòa được bộc lộ trong tài liệu của WHO: Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva: World Health Organisation, 2005, version 2002.5.

Sáng chế đề cập đến phân tử liên kết được phân lập của người có khả năng nhận biết và liên kết với epitop trên protein haemagglutinin (HA) của virus cúm, khác biệt ở chỗ, phân tử liên kết này có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm A chứa HA thuộc typ phụ H3. Ví dụ về typ phụ của virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H3 là H3N2. Đặc biệt được ưu tiên là phân tử liên kết trung hòa typ phụ cúm H3N2. Theo một phương án, phân tử liên kết theo sáng chế trung hòa ít nhất một hoặc nhiều chủng H3N2 gần đây. Theo một phương án, phân tử liên kết theo sáng chế ít nhất liên kết với và trung hòa một hoặc nhiều chủng H3N2 được chọn từ nhóm bao gồm A/Wisconsin/67/2005, A/Hiroshima/52/2005, A/Panama/2007/99, và

A/Johannesburg/33/94. Theo một phương án khác, phân tử liên kết cũng liên kết với và trung hòa chủng H3N2 A/Hong Kong/1/68. Tốt nhất là, phân tử liên kết liên kết với và có hoạt tính trung hòa chống lại tất cả các chủng cúm H3N2 từ các năm 1968 đến 2005, tốt hơn nữa là tất cả các chủng đã biết của typ phụ virus cúm này.

Theo một phương án khác, phân tử liên kết theo sáng chế cũng có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm thuộc các typ phụ virus cúm A khác, tốt hơn là ít nhất các virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H7, chẳng hạn như chủng A/Mallard/Netherlands/12/2000, và/hoặc typ phụ H10, chẳng hạn như chủng A/chick/Germany/N/49. Do đó, đã chứng minh được rằng một số phân tử liên kết theo sáng chế trung hòa chéo các typ phụ của virus cúm này. Do đó, sáng chế cũng đề cập đến phân tử liên kết mà liên kết với epitop trong protein haemagglutinin có mặt hoặc được bảo toàn trong các typ phụ virus cúm và do đó đề cập đến phân tử liên kết phản ứng chéo giữa các typ phụ của virus cúm H3, H7, và/hoặc H10, và các typ phụ của virus cúm khác chứa protein HA có các epitop cụ thể này, tốt hơn là tất cả các virus cúm thuộc nhóm phả hệ 2. Tốt hơn là, phân tử liên kết có khả năng trung hòa chéo liên kết với và trung hòa một vài chủng của typ phụ H3, H7, và/hoặc H10. Theo một phương án, các phân tử liên kết có khả năng trung hòa chéo này liên kết với và trung hòa ít nhất một hoặc nhiều chủng H3N2 gần đây được chọn từ nhóm bao gồm A/Wisconsin/67/2005, A/Hiroshima/52/2005, A/Johannesburg/33/94, và A/Panama/2007/99. Theo một phương án khác, phân tử liên kết cũng liên kết với và trung hòa chủng H3N2 A/Hong Kong/1/68. Tốt nhất là, phân tử liên kết liên kết với và có hoạt tính trung hòa chống lại tất cả các chủng cúm H3N2 từ các năm 1968 đến 2005, tốt hơn là tất cả các chủng đã biết, và thậm chí tốt hơn nữa là các chủng H3N2 trong tương lai. Theo một phương án khác, phân tử liên kết trung hòa hầu như tất cả các chủng phân lập của các typ phụ virus cúm khác này.

Theo một phương án, phân tử liên kết theo sáng chế liên kết với và trung hòa tất cả các typ phụ của virus cúm thuộc nhóm phả hệ 2.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, dựa trên nội dung được mô tả ở đây, có thể quyết định liệu kháng thể có phản ứng chéo với các protein HA thu được từ các typ phụ khác nhau hay không và cũng quyết định liệu chúng có thể trung hòa các virus cúm thuộc các typ phụ khác nhau *in vivo* hay không.

Virus cúm gây nhiễm tế bào bằng cách liên kết với các gốc axit sialic trên bề mặt tế bào của tế bào đích, và sau đó vận chuyển vào nội thể, bằng cách dung hợp các màng của chúng với các màng nội thể và giải phóng phức hợp hệ gen-transcriptaza vào tế bào. Cả quá trình liên kết với thụ thể và dung hợp màng được trung gian bởi glycoprotein HA. HA của virus cúm A bao gồm hai vùng khác nhau về cấu trúc, tức là vùng đầu có dạng hình cầu chứa vị trí liên kết với thụ thể chịu trách nhiệm gắn virus với tế bào đích, và có liên quan đến hoạt tính ngưng kết hồng cầu của HA, và vùng thân chứa peptit dung hợp cần thiết để dung hợp màng giữa vỏ virus và màng nội thể của tế bào. Protein HA là một trimer trong đó mỗi monome gồm hai glycopolypeptit được liên kết với nhau bằng liên kết disulfua là HA1 và HA2 được tổng hợp trong quá trình lây nhiễm bằng cách phân cắt tiền chất (HA0) theo kiểu phân giải protein. Sự phân cắt là cần thiết cho tính lây nhiễm virus vì nó cần thiết để gây miễn cảm HA để dung hợp màng và để thay đổi cấu trúc. Sự hoạt hóa phân tử đã miễn cảm sơ bộ xảy ra ở độ pH thấp trong các nội thể, độ pH này nằm trong khoảng từ 5 đến 6, và cần có sự thay đổi lớn về cấu trúc HA. Cấu trúc ba chiều của các dạng HA tiền dung hợp chưa được phân cắt (I), tiền dung hợp đã phân cắt (II) và sau dung hợp (III) được thể hiện bằng sơ đồ trên Fig.4. Mỗi giai đoạn trong quá trình gây miễn cảm và hoạt hóa HA để nó tham gia vào quá trình dung hợp màng là một đích ức chế khác nhau, ví dụ bằng các kháng thể đơn dòng.

Theo một phương án của sáng chế, phân tử liên kết ít nhất có thể ngăn ngừa sự phân cắt tiền phân tử HA0 của HA trong thử nghiệm *in vitro*, ví dụ thử nghiệm như được mô tả dưới đây trong phần ví dụ thực hiện sáng chế. Như được giải thích trên đây, sự phân cắt tiền phân tử HA0 của HA thành HA1 và HA2 bằng các proteaza của tế bào chủ là cần thiết để kích hoạt tính lây nhiễm của virus. Do đó, việc ngăn ngừa sự phân cắt phân tử tiền chất HA0 của HA bằng phân tử liên kết theo sáng chế có thể ngăn ngừa sự lây nhiễm của virus cúm.

Theo một phương án, phân tử liên kết theo sáng chế liên kết với epitop bao gồm axit amin ở vị trí 19, 25, 27, 33 và/hoặc 34 của polypeptit HA2 của protein HA H3. Theo một phương án, phân tử liên kết theo sáng chế liên kết với epitop trên HA2 này nếu axit amin ở vị trí 19 là axit aspartic (D), axit amin ở vị trí 25 là glutamin (Q), axit amin ở vị trí 27 là glyxin (G), axit amin ở vị trí 33 là glyxin (G) và/hoặc axit amin ở vị trí 34 là glutamin. Tốt hơn là, phân tử liên kết theo sáng chế không liên kết với epitop trên HA2 này nếu một hoặc nhiều axit amin đã nêu thay đổi. Việc đánh số axit amin được dựa trên trình tự hemagglutinin từ cơ sở dữ liệu số Q91MA7 (SEQ ID NO: 193). Q91MA7 thể hiện trình tự có chiều dài đầy đủ của HA chưa trưởng thành của virus A/Hong Kong/1/1968. Trình tự HA2 bắt đầu ở G346 của protein HA chưa trưởng thành chưa được phân cắt. Theo cách đánh số trên đây G346 là G1 trong trình tự HA2.

Phân tử liên kết theo sáng chế là phân tử được chọn từ nhóm bao gồm:

- a) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:81, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:82, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:83,
- b) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:87, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:88, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:89,

- c) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:103, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:104, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:105,
- d) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:109, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:110, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:111,
- e) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:115, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:116, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:117,
- f) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:121, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:122, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:123,
- g) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:126, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:127, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:128,
- h) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:132, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:133, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:134,
- i) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:138, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:139, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:140,
- j) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:144, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:145, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:146,
- k) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:150, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:151, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:152,

- l) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:156, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:157, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:158,
- m) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:162, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:163, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:164,
- n) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:168, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:169, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:170,
- o) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:173, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:174, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:175, và
- p) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:179, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:180, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:181. .

Theo một phương án được ưu tiên, phân tử liên kết theo sáng chế được dùng làm thuốc và tốt hơn là dùng để chẩn đoán, điều trị và/hoặc điều trị dự phòng bệnh nhiễm virus cúm. Tốt hơn là, virus cúm gây bệnh cúm có thể được điều trị bằng phân tử liên kết theo sáng chế là virus cúm thuộc typ phụ H3N2. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa phân tử liên kết theo sáng chế, và tá dược được dùng.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế mô tả việc sử dụng phân tử liên kết theo sáng chế để điều chế thuốc để chẩn đoán, phòng, và/hoặc điều trị bệnh nhiễm virus cúm. Các bệnh nhiễm virus này có thể xảy ra ở các vùng dân cư nhỏ, nhưng cũng có thể lây lan khắp thế giới thành dịch bệnh theo mùa hoặc, nguy hiểm hơn, thành đại dịch toàn cầu mà hàng triệu người có nguy cơ mắc bệnh. Sáng chế đề cập đến phân tử liên kết có khả năng trung hòa các chủng virus cúm gây dịch bệnh theo mùa này, cũng như là đại dịch tiềm ẩn. Quan trọng là, tác dụng bảo vệ và điều trị có thể được nghĩ đến hiện

nay với phân tử liên kết theo sáng chế có liên quan đến nhiều typ phụ cúm khác nhau vì đã được bộc lộ rằng phân tử liên kết theo sáng chế có khả năng trung hòa chéo nhiều typ phụ cúm khác nhau thuộc nhóm phả hệ 2, bao gồm các typ phụ H3, H7 và H10.

Theo một phương án được ưu tiên, phân tử liên kết của người theo sáng chế, khác biệt ở chỗ, phân tử liên kết của người được chọn từ nhóm bao gồm:

- a) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:81, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:82, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:83, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:84, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:85, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:86,
- b) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:87, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:88, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:89, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:90, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:91, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:92,
- c) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:87, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:88, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:89, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:93, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:94, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:95,
- d) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:87, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:88, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:89, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:96, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin

nêu trong SEQ ID NO:97, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:98,

e) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:87, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:88, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:89, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:99, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:100, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:101,

f) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:87, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:88, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:89, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:102, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:85, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:86,

g) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:103, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:104, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:105, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:106, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:107, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:108,

h) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:109, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:110, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:111, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:112, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:113, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:114,

i) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:115, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:116, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:117, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự

axit amin nêu trong SEQ ID NO:118, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:119, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:120,

j) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:121, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:122, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:123, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:124, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:119, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:125,

k) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:126, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:127, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:128, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:129, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:130, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:131,

l) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:132, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:133, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:134, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:135, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:136, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:137,

m) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:138, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:139, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:140, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:141, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:142, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:143,

n) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:144, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:145, và vùng CDR3

chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:146, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:147, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:148, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:149,

o) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:150, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:151, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:152, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:153, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:154, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:155,

p) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:156, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:157, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:158, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:159, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:160, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:161,

q) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:162, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:163, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:164, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:165, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:166, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:167,

r) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:168, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:169, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:170, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:171, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:172, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:137,

s) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:173, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:174, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:175, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:176, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:177, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:178,

và

t) phân tử liên kết bao gồm vùng CDR1 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:179, vùng CDR2 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:180, và vùng CDR3 chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:181, vùng CDR1 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:182, vùng CDR2 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:183, và vùng CDR3 chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:184.

Theo một phương án cụ thể, phân tử liên kết theo sáng chế được chọn từ nhóm bao gồm phân tử liên kết chứa vùng CDR1 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 81, vùng CDR2 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 82 và vùng CDR3 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 83; phân tử liên kết chứa vùng CDR1 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 109, vùng CDR2 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 110 và vùng CDR3 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 111; phân tử liên kết chứa vùng CDR1 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 138, vùng CDR2 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 139 và vùng CDR3 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 140; phân tử liên kết chứa vùng CDR1 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144, vùng CDR2 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 145 và vùng CDR3 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 146; và phân tử liên kết chứa vùng CDR1 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 173, vùng CDR2 chuỗi nặng có trình tự

axit amin nêu trong SEQ ID NO: 174 và vùng CDR3 chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 175.

Các vùng CDR của phân tử liên kết theo sáng chế được thể hiện trong bảng 1. Các vùng CDR là theo Kabat và các đồng tác giả (1991) như được mô tả trong tài liệu: Sequences of Proteins of Immunological Interest. Theo một phương án của sáng chế phân tử liên kết có thể bao gồm một, hai, ba, bốn, năm hoặc cả sáu vùng CDR như được mô tả ở đây. Tốt hơn là, phân tử liên kết theo sáng chế chứa ít nhất hai trong số các CDR mô tả ở đây.

Theo một phương án khác, phân tử liên kết theo sáng chế chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:54, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:74, và SEQ ID NO:78. Theo một phương án khác, phân tử liên kết theo sáng chế chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:76, và SEQ ID NO:80.

Một khía cạnh khác theo sáng chế đề cập đến các biến thể chức năng của phân tử liên kết như được mô tả ở đây. Các phân tử được coi là các biến thể chức năng của phân tử liên kết theo sáng chế nếu các biến thể này có khả năng cạnh tranh với các phân tử liên kết “đối chứng” hoặc “gốc” để liên kết đặc hiệu với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó. Nói cách khác, nếu các biến thể chức năng vẫn có khả năng liên kết với cùng một epitop hoặc epitop chồng lên nhau của virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó. Vì mục đích của đơn này, các thuật ngữ “gốc” và “đối chứng” sẽ được sử dụng như là các từ đồng

nghĩa có nghĩa là thông tin về phân tử gốc hoặc đối chứng, hoặc chính phân tử tự nhiên có thể tạo cơ sở để biến đổi. Tốt hơn là, các biến thể chức năng có khả năng cạnh tranh để liên kết đặc hiệu với ít nhất hai (hoặc nhiều) chủng virus cúm H3N2 khác nhau hoặc các mảnh của chúng mà liên kết đặc hiệu với phân tử liên kết đối chứng. Ngoài ra, các phân tử được coi là các biến thể chức năng của phân tử liên kết theo sáng chế, nếu chúng có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm H3N2, tốt hơn là chống lại ít nhất hai (hoặc nhiều) chủng virus cúm H3N2 mà phân tử liên kết gốc có hoạt tính trung hòa. Các biến thể chức năng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các dẫn xuất gần như giống nhau về trình tự cấu trúc bậc nhất, bao gồm các biến thể có các cải biến ở thụ thể Fc hoặc các vùng khác có liên quan đến chức năng tác động, và/hoặc chứa ví dụ các cải biến, hóa học và/hoặc sinh hóa *in vitro* hoặc *in vivo* mà không được phát hiện ở phân tử liên kết gốc. Các cải biến này bao gồm, axetyl hóa, axyl hóa, liên kết cộng hóa trị của nucleotit hoặc dẫn xuất nucleotit, liên kết cộng hóa trị của lipid hoặc dẫn xuất lipid, liên kết chéo, sự tạo thành liên kết disulfua, glycosyl hóa, hydroxyl hóa, metyl hóa, oxy hóa, pegyl hóa, xử lý phân giải protein, phosphoryl hóa, và cải biến tương tự, không kể các cải biến khác.

Theo cách khác, các biến thể chức năng có thể là phân tử liên kết như được định nghĩa trong sáng chế bao gồm trình tự axit amin có sự thay thế, thêm, xóa một hoặc nhiều axit amin hoặc tổ hợp các biến đổi này so với trình tự axit amin của các phân tử liên kết gốc. Ngoài ra, các biến thể chức năng có thể bao gồm trình tự axit amin cắt ngắn ở một hoặc cả hai đầu tận cùng axit amin hoặc carboxyl. Các biến thể chức năng theo sáng chế có thể có ái lực liên kết giống nhau hoặc khác nhau, hoặc cao hơn hoặc thấp hơn so với phân tử liên kết gốc nhưng vẫn có khả năng liên kết với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó. Ví dụ, các biến thể chức năng theo sáng chế có thể có ái lực liên kết tăng hoặc giảm đối với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó so với phân tử liên kết gốc. Tốt hơn là, trình tự axit amin của các vùng biến đổi, bao

gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vùng khung, vùng siêu biến, cụ thể là các vùng CDR3, được cải biến. Nói chung, các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có ba vùng siêu biến, bao gồm ba vùng CDR, và các vùng bảo toàn hơn được gọi là vùng khung (FR). Vùng siêu biến bao gồm các gốc axit amin của các vùng CDR và các gốc axit amin của các vùng siêu biến. Các biến thể chức năng được dự tính thuộc phạm vi sáng chế có mức độ tương đồng trình tự axit amin ít nhất từ 50% đến 99%, tốt hơn là ít nhất từ 60% đến 99%, tốt hơn nữa là ít nhất từ 70% đến 99%, thậm chí tốt hơn nữa ít nhất từ 80% đến 99%, tốt nhất là ít nhất từ 90% đến 99%, cụ thể là ít nhất từ 95% đến 99%, và cụ thể là ít nhất từ 97% đến 99%, với phân tử liên kết gốc như được mô tả ở đây. Các thuật toán trên máy tính chẳng hạn như Gap hoặc Bestfit, không kể các thuật toán khác, đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng để đóng thẳng hàng tối ưu các trình tự axit amin cần so sánh và để xác định các gốc axit amin tương tự hoặc giống nhau. Các biến thể chức năng có thể thu được bằng cách làm thay đổi phân tử liên kết gốc hoặc các phần của chúng bằng các phương pháp sinh học phân tử thông thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, PCR dễ mắc lỗi, gây đột biến định hướng oligonucleotit, gây đột biến định hướng vị trí và sắp xếp lại chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ. Theo một phương án, các biến thể chức năng theo sáng chế có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm H3N2. Hoạt tính trung hòa có thể giống nhau, hoặc có thể cao hơn hoặc thấp hơn so với phân tử liên kết gốc. Từ đây trở đi, nếu thuật ngữ phân tử liên kết (của người) được sử dụng, thuật ngữ này cũng bao gồm các biến thể chức năng của phân tử liên kết (của người).

Cũng theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến các thể liên hợp miễn dịch, tức là các phân tử bao gồm ít nhất một phân tử liên kết như được định nghĩa ở đây và còn bao gồm ít nhất một đuôi, chẳng hạn như chất/nhóm dễ phát hiện, không kể các đuôi khác. Sáng chế cũng bao gồm hỗn hợp các

thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế hoặc hỗn hợp gồm ít nhất một thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế và phân tử khác, chẳng hạn như chất điều trị hoặc phân tử liên kết khác hoặc thể liên hợp miễn dịch. Theo một phương án khác, các thể liên hợp theo sáng chế có thể chứa nhiều hơn một đuôi. Các đuôi này có thể giống hoặc khác nhau và có thể được liên kết/liên hợp không cộng hóa trị với các phân tử liên kết. (Các) đuôi này cũng có thể liên kết/liên hợp trực tiếp với các phân tử liên kết của người thông qua liên kết cộng hóa trị. Theo cách khác, (các) đuôi này có thể được liên kết/liên hợp với các phân tử liên kết nhờ một hoặc nhiều hợp chất liên kết. Các kỹ thuật liên hợp đuôi với phân tử liên kết là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các đuôi của thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế có thể là các chất điều trị, nhưng chúng cũng có thể là các nhóm/chất dễ phát hiện. Các đuôi thích hợp để phòng và/hoặc điều trị có thể là độc tố hoặc các phần chức năng của chúng, chất kháng sinh, enzym, các phân tử liên kết khác có tác dụng làm tăng sự thực bào hoặc sự kích thích miễn dịch. Các thể liên hợp miễn dịch chứa chất dễ phát hiện có thể được sử dụng trong chẩn đoán để đánh giá nếu đối tượng bị nhiễm chủng virus cúm H3N2 hoặc để kiểm soát sự phát triển hoặc tiến triển của bệnh nhiễm virus cúm H3N2 như là một phần của quy trình kiểm tra lâm sàng để xác định hiệu quả của phác đồ điều trị đã sử dụng. Tuy nhiên, chúng cũng có thể được sử dụng cho các mục đích phát hiện và/hoặc phân tích và/hoặc chẩn đoán khác. Các nhóm/chất có thể phát hiện bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, enzym, các nhóm phụ gia, chất huỳnh quang, chất phát quang, chất phát quang sinh học, chất phóng xạ, kim loại phát xạ positron, và ion kim loại thuận từ không có hoạt tính phóng xạ. Các đuôi được dùng để đánh dấu phân tử liên kết để phát hiện và/hoặc phân tích và/hoặc chẩn đoán phụ thuộc vào các kỹ thuật và/hoặc phương pháp phát hiện/phân tích/chẩn đoán cụ thể được sử dụng như nhuộm hóa mô miễn dịch các mẫu (mô), phát hiện bằng kỹ thuật đếm tế bào theo dòng, phát hiện

bằng cách đếm tế bào nhờ quét laze, thử nghiệm miễn dịch huỳnh quang, thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (enzyme-linked immunosorbent assays-ELISA), thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (radioimmunoassay-RIAs), thử nghiệm sinh học (ví dụ, thử nghiệm thực bào), phương pháp thẩm tách Western, v.v.. Các chất đánh dấu thích hợp dùng cho các kỹ thuật phát hiện/phân tích/chẩn đoán và/hoặc các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này là đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Hơn thế nữa, phân tử liên kết của người hoặc các thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế cũng có thể được gắn với chất mang dạng rắn, đặc biệt hữu dụng cho các thử nghiệm miễn dịch *in vitro* hoặc tinh chế virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó. Các chất mang dạng rắn này có thể là xốp hoặc không xốp, phẳng hoặc không phẳng. Phân tử liên kết theo sáng chế có thể được dung hợp với các trình tự đánh dấu, như peptit để dễ dàng tinh chế. Các ví dụ về chúng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, đuôi hexa-histidin, đuôi hemagglutinin (HA), đuôi myc hoặc đuôi flag. Theo cách khác, một kháng thể có thể được liên hợp với một kháng thể thứ hai để tạo thành thể dị liên hợp kháng thể. Theo một khía cạnh khác, phân tử liên kết theo sáng chế có thể được liên hợp/liên kết với một hoặc nhiều kháng nguyên. Tốt hơn là, các kháng nguyên này là các kháng nguyên được nhận biết bởi hệ miễn dịch của đối tượng được sử dụng thể liên hợp phân tử liên kết-kháng nguyên. Các kháng nguyên này có thể giống nhau, những cũng có thể khác nhau. Các phương pháp liên hợp để liên kết kháng nguyên và phân tử liên kết là đã biết trong lĩnh vực này và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sử dụng các chất liên kết chéo. Phân tử liên kết theo sáng chế sẽ gắn với virus cúm H3N2 và các kháng nguyên liên kết với phân tử liên kết sẽ khơi mào sự tấn công tế bào T khỏe mạnh trên thể liên hợp này, cuối cùng điều này sẽ dẫn đến sự phá hủy virus cúm H3N2.

Sau khi tổng hợp các thể liên hợp miễn dịch bằng phương pháp hóa học bằng cách liên hợp trực tiếp hoặc gián tiếp, thông qua chất liên kết, thể liên hợp miễn dịch có thể được tổng hợp ở dạng protein dung hợp gồm có phân tử liên kết theo sáng chế và đuôi thích hợp. Các protein dung hợp có thể được tổng hợp bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này chẳng hạn như, tái tổ hợp bằng cách tạo ra các phân tử axit nucleic có các trình tự nucleotit mã hóa phân tử liên kết trong khung và các trình tự nucleotit mã hóa (các) đuôi thích hợp và sau đó biểu hiện các phân tử axit nucleic này.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa ít nhất phân tử liên kết, biến thể chức năng hoặc thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế. Các phân tử axit nucleic này có thể được sử dụng làm các chất trung gian để tách dòng, ví dụ trong quá trình thuần thực ái lực như được mô tả trên đây. Theo một phương án được ưu tiên, các phân tử axit nucleic được phân lập hoặc được tinh chế.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu rằng các biến thể chức năng của các phân tử axit nucleic này cũng được coi là thuộc phạm vi của sáng chế. Các biến thể chức năng là các trình tự axit nucleic có thể được dịch mã trực tiếp nhờ mã di truyền chuẩn, để thu được trình tự axit amin giống với trình tự được dịch mã từ các phân tử axit nucleic gốc.

Tốt hơn là, các phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết có các vùng CDR như được mô tả trên đây. Theo một phương án khác, các phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết chứa hai, ba, bốn, năm hoặc thậm chí cả sáu vùng CDR của phân tử liên kết theo sáng chế.

Theo một phương án khác, các phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết gồm có chuỗi nặng có các trình tự biến đổi của chuỗi nặng như được mô tả trên đây. Theo một phương án khác, các phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết gồm có chuỗi nhẹ có các trình tự biến đổi của chuỗi nhẹ như

được mô tả trên đây. Các trình tự nucleotit và trình tự axit amin của các vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của phân tử liên kết theo sáng chế được thể hiện dưới đây.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến vector, tức là các cấu trúc axit nucleic, bao gồm một hoặc nhiều phân tử axit nucleic theo sáng chế. Vector có thể thu được từ plasmit như F, R1, RP1, Col, pBR322, TOL, Ti, v.v.; cosmit; thể thực khuẩn chẳng hạn như lamda, lambdoid, M13, Mu, P1, P22, Q $\beta$ , T-even, T-odd, T2, T4, T7, v.v.; virus ở thực vật. Vector có thể được sử dụng để tách dòng và/hoặc biểu hiện phân tử liên kết theo sáng chế và thậm chí có thể được sử dụng cho các mục đích điều trị bằng gen. Vector bao gồm một hoặc nhiều phân tử axit nucleic theo sáng chế được liên kết khi hoạt động với một hoặc nhiều phân tử axit nucleic điều hòa sự biểu hiện cũng thuộc phạm vi sáng chế. Việc chọn vector phụ thuộc vào quy trình tái tổ hợp và vật chủ được sử dụng. Việc đưa vector vào vật chủ có thể được thực hiện bởi sự chuyển nhiễm bằng canxi phosphat, nhiễm virus, sự chuyển nhiễm qua trung gian DEAE-dextran, chuyển nhiễm lipofectamin hoặc tạo lỗ bằng điện. Vector có thể tự sao chép hoặc sao chép cùng với nhiễm sắc thể mà chúng được hợp nhất. Tốt hơn là, các vector chứa một hoặc nhiều gen đánh dấu chọn lọc. Việc chọn gen đánh dấu có thể phụ thuộc vào vật chủ được chọn, mặc dù việc này không quan trọng đối với sáng chế vì đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Gen đánh dấu này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, gen kanamycin, neomycin, puromycin, hygromycin, zeoxon, thymidin kinaza của virus ecpet (HSV-TK), gen dihydrofolat reductaza của chuột (dhfr). Vector chứa một hoặc nhiều phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết của người như được mô tả trên đây được liên kết khi hoạt động với một hoặc nhiều phân tử axit nucleic mã hóa protein hoặc peptit mà có thể được sử dụng để phân lập phân tử liên kết của người cũng được đề cập trong sáng chế. Các protein hoặc peptit này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, glutathion-S-transferaza, protein liên

kết với maltoza, polyhistidin liên kết với kim loại, protein huỳnh quang xanh lá cây, luxiferaza và beta-galactosidaza.

Vật chủ chứa một hoặc nhiều bản sao của vectơ nêu trên là một đối tượng khác của sáng chế. Tốt hơn là, vật chủ này là tế bào chủ. Các tế bào chủ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tế bào có nguồn gốc động vật có vú, thực vật, côn trùng, nấm hoặc vi khuẩn. Các tế bào vi khuẩn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tế bào có nguồn gốc vi khuẩn gram dương hoặc vi khuẩn gram âm như một số loài thuộc chi *Escherichia*, như *E. coli*, và *Pseudomonas*. Tốt hơn là, trong nhóm tế bào nấm nên sử dụng tế bào nấm men. Sự biểu hiện ở nấm men có thể đạt được bằng cách sử dụng các chủng như *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae* và *Hansenula polymorpha*. Ngoài ra, các tế bào côn trùng chẳng hạn như tế bào *Drosophila* và Sf9 có thể được sử dụng làm tế bào chủ. Ngoài ra, các tế bào chủ có thể là tế bào thực vật như tế bào có nguồn gốc từ cây trồng, chẳng hạn như cây lâm nghiệp, hoặc tế bào có nguồn gốc từ cây cung cấp nguyên liệu thô và thức ăn chẳng hạn như cây ngũ cốc, hoặc cây thuốc, hoặc tế bào có nguồn gốc từ cây cảnh, hoặc tế bào có nguồn gốc từ cây hành hoa. Thực vật chuyển gen (biến đổi gen) hoặc tế bào thực vật chuyển gen được tạo ra bằng các phương pháp đã biết, ví dụ, chuyển gen qua *Agrobacterium*, chuyển nhiễm đĩa lá, chuyển nhiễm thể nguyên sinh bằng cách chuyển nhiễm ADN được cảm ứng bởi polyetylen glycol, tạo lỗ bằng điện, siêu âm, vi tiêm hoặc chuyển nhiễm gen bằng súng bắn gen. Ngoài ra, hệ biểu hiện thích hợp có thể là hệ baculovirus. Hệ biểu hiện nhờ tế bào động vật có vú chẳng hạn như tế bào trứng chuột đồng Trung Quốc (Chinese Hamster Ovary-CHO), tế bào COS, tế bào BHK, tế bào NSO hoặc tế bào u melanin Bowes được ưu tiên trong sáng chế. Tế bào động vật có vú cung cấp các protein được biểu hiện có các cải biến sau dịch mã giống nhất với các phân tử tự nhiên có nguồn gốc từ động vật có vú. Vì sáng chế đề cập đến các phân tử có thể sử dụng được cho người, hệ biểu hiện hoàn toàn của người đặc biệt được ưu tiên. Do đó, thậm chí được ưu

tiên hơn nếu tế bào chủ là tế bào của người. Ví dụ về tế bào của người không kể các tế bào khác là các tế bào HeLa, 911, AT1080, A549, 293 và HEK293T. Theo các phương án được ưu tiên, các tế bào sản xuất của người bao gồm ít nhất phần chức năng của trình tự axit nucleic mã hóa vùng E1 của adenovirut ở dạng dễ biểu hiện. Theo các phương án được ưu tiên hơn, các tế bào chủ này có nguồn gốc từ võng mạc của người và được làm bất tử bằng các axit nucleic chứa các trình tự E1 của adenovirut, chẳng hạn như các tế bào 911 hoặc dòng tế bào được lưu giữ ở bảo tàng chủng nuôi cấy tế bào châu Âu (European Collection of Cell Cultures-ECACC), CAMR, Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Vương Quốc Anh ngày 29 tháng 2 năm 1996 dưới số 96022940 và được bán trên thị trường dưới nhãn hiệu PER.C6<sup>®</sup> (PER.C6 là nhãn hiệu đã đăng ký của Crucell Holland B.V.). Vì các mục đích của đơn này, thuật ngữ “tế bào PER.C6” được dùng để chỉ tế bào được lưu giữ dưới số 96022940 hoặc tế bào tổ tiên, dòng xuôi hoặc dòng ngược của tế bào cấy chuyển cũng như là tế bào con cháu của tổ tiên của tế bào lưu trữ, cũng như là tế bào con cháu của dòng tế bào bất kỳ trong số các dòng tế bào nêu trên. Sự tổng hợp protein tái tổ hợp ở tế bào chủ có thể được thực hiện theo các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Việc sử dụng các tế bào được bán dưới nhãn hiệu PER.C6<sup>®</sup> làm cơ sở tổng hợp protein quan tâm đã được mô tả trong công bố đơn quốc tế WO 00/63403 được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Phân tử liên kết có thể được tạo ra bằng các phương pháp khác nhau. Phương pháp tổng hợp phân tử liên kết theo sáng chế là một phần khác của sáng chế. Phương pháp này bao gồm các bước a) nuôi cấy tế bào chủ theo sáng chế trong các điều kiện thích hợp để biểu hiện phân tử liên kết, và b) tùy ý, thu hồi phân tử liên kết được biểu hiện. Phân tử liên kết được biểu hiện có thể được thu hồi từ dịch chiết không chứa tế bào, nhưng tốt hơn là chúng được thu hồi từ môi trường nuôi cấy. Phương pháp tổng hợp trên đây cũng có thể được sử dụng để tạo ra các biến thể chức năng của các phân tử

liên kết và/hoặc thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế. Phương pháp thu hồi protein, chẳng hạn như phân tử liên kết, từ dịch chiết không chứa tế bào hoặc môi trường nuôi cấy là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Phân tử liên kết, các biến thể chức năng và/hoặc các thể liên hợp miễn dịch có thể thu được bằng phương pháp mô tả trên đây cũng là một phần của sáng chế.

Theo cách khác, sau khi biểu hiện trong vật chủ, chẳng hạn như tế bào chủ, phân tử liên kết và các thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế có thể được tạo ra bằng cách tổng hợp bằng các hệ tổng hợp peptit thông thường hoặc trong hệ dịch mã ngoài tế bào nhờ axit nucleic ARN thu được từ các phân tử ADN theo sáng chế. Phân tử liên kết là các thể liên hợp miễn dịch có thể thu được bằng các phương pháp tổng hợp nêu trên hoặc hệ dịch mã không chứa tế bào cũng là một phần của sáng chế.

Theo một phương án khác, phân tử liên kết theo sáng chế cũng có thể được tổng hợp trong động vật có vú chuyển gen không phải người như thỏ, dê hoặc bò, và được tiết vào sữa của chúng.

Cũng theo một phương án khác, phân tử liên kết theo sáng chế, tốt hơn là phân tử liên kết của người liên kết đặc hiệu với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó, có thể được tạo ra bởi động vật có vú chuyển gen không phải người, như chuột hoặc thỏ chuyển gen, biểu hiện các gen globulin miễn dịch của người. Tốt hơn là, động vật có vú chuyển gen không phải người có hệ gen chứa gen chuyển của chuỗi nặng của người và gen chuyển của chuỗi nhẹ của người mã hóa tất cả hoặc một phần của các phân tử liên kết của người như được mô tả trên đây. Động vật có vú chuyển gen không phải người có thể được gây miễn dịch bằng chế phẩm tinh chế hoặc được làm giàu chứa virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó. Quy trình gây miễn dịch động vật có vú không phải người là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Xem tài liệu: *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Edited by: E. Harlow, D. Lane (1998), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York and

Current Protocols in Immunology, Edited by: J.E. Coligan, A.M. Kruisbeek, D.H. Margulies, E.M. Shevach, W. Strober (2001), John Wiley & Sons Inc., New York, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Quy trình gây miễn dịch thường bao gồm gây miễn dịch nhiều lần, có sử dụng hoặc không sử dụng tá dược chẳng hạn như tá dược đầy đủ Freund và tá dược không đầy đủ Freund, nhưng cũng có thể bao gồm gây miễn dịch ADN trần. Theo một phương án khác, phân tử liên kết của người được tổng hợp bởi tế bào B, huyết tương và/hoặc tế bào nhớ thu được từ động vật chuyển gen. Theo một phương án khác, phân tử liên kết của người được tổng hợp bởi các tế bào lai được tạo ra bằng cách dung hợp tế bào B thu được từ động vật chuyển gen không phải người nêu trên với tế bào nuôi cấy dài ngày. Các tế bào B, tế bào huyết tương và tế bào lai như thu được từ động vật có vú chuyển gen không phải người như trên đây và phân tử liên kết của người như thu được từ động vật có vú chuyển gen không phải người mô tả trên đây, tế bào B, huyết tương và/hoặc tế bào nhớ và tế bào lai cũng là một phần của sáng chế.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp xác định phân tử liên kết, như phân tử liên kết của người, ví dụ kháng thể đơn dòng của người hoặc đoạn của nó, liên kết đặc hiệu với virus cúm H3N2 hoặc các phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết này và bao gồm các bước: (a) cho các phân tử liên kết trên bề mặt gói gen có thể sao chép tiếp xúc với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó trong các điều kiện thích hợp để liên kết, (b) chọn lọc ít nhất một lần gói gen có thể sao chép liên kết với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó, (c) tách và thu hồi gói gen có thể sao chép liên kết với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó từ các gói gen có thể sao chép không liên kết với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó. Gói gen có thể sao chép như được sử dụng ở đây có thể không nhân hoặc có nhân thực và bao gồm các tế bào, bào tử, nấm men, vi khuẩn, virus, thể thực khuẩn, ribosom và polysom. Gói gen có thể sao chép được ưu tiên là thể thực khuẩn. Phân tử liên kết, như Fvs chuỗi đơn, được biểu hiện trên gói gen có thể sao chép, tức là chúng

được liên kết với nhóm hoặc phân tử nằm trên bề mặt ngoài của gói gen có thể sao chép. Gói gen có thể sao chép này là đơn vị dễ sàng lọc chứa phân tử liên kết cần sàng lọc liên kết với phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết. Phân tử axit nucleic có thể được sao chép hoặc *in vivo* (ví dụ, như vector) hoặc *in vitro* (ví dụ, bằng PCR, phiên mã hoặc dịch mã). Sự sao chép *in vivo* có thể là tự sao chép (như đối với tế bào), với sự trợ giúp của các yếu tố của vật chủ (như đối với virus) hoặc với sự trợ giúp của cả vật chủ và virus hỗ trợ (như đối với phagemit). Gói gen có thể sao chép biểu hiện nhóm các phân tử liên kết được tạo thành bằng cách đưa các phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết ngoại sinh cần biểu hiện trong hệ gen của gói gen có thể sao chép để tạo thành protein dung hợp với protein nội sinh thường được biểu hiện từ mặt ngoài của gói gen có thể sao chép. Sự biểu hiện protein dung hợp, vận chuyển đến bề mặt ngoài và lắp ráp dẫn đến sự biểu hiện phân tử liên kết ngoại sinh từ mặt ngoài của gói gen có thể sao chép.

Các bước chọn lọc trong các phương pháp theo sáng chế có thể được tiến hành với các virus cúm H3N2 đang còn sống và vẫn có khả năng lây nhiễm hoặc bị bất hoạt. Việc bất hoạt virus cúm H3N2 có thể được tiến hành bằng các phương pháp bất hoạt virus đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này như xử lý bằng formalin,  $\beta$ -propiolacton (BPL), merthiolat, và/hoặc ánh sáng tử ngoại. Các phương pháp thử nghiệm để xác định virus cúm H3N2 vẫn còn sống, có khả năng lây nhiễm và/hoặc có thể sống sót hoặc bị bất hoạt một phần hoặc hoàn toàn là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Virus cúm H3N2 sử dụng trong các phương pháp trên đây không cần phải ở dạng tinh chế, ví dụ có thể có mặt trong huyết thanh và/hoặc máu của người bị nhiễm. Virus cúm H3N2 này cũng có thể được phân lập từ dịch nuôi cấy tế bào trong môi trường thích hợp.

Theo một phương án, virus cúm H3N2 ở dạng hỗn dịch khi được tiếp xúc với gói gen có thể sao chép. Theo cách khác, chúng cũng có thể được kết

hợp với chất mang khi xảy ra sự tiếp xúc. Theo một phương án, vòng chọn lọc thứ nhất và vòng chọn lọc sau đó có thể được thực hiện đối với một chủng virus cúm H3N2. Theo cách khác, vòng chọn lọc thứ nhất và tiếp theo có thể được thực hiện đối với các chủng virus cúm H3N2 khác nhau. Theo cách khác, (các) bước chọn lọc có thể được thực hiện khi có mặt mảnh virus cúm H3N2 như các chế phẩm màng tế bào, protein hoặc polypeptit H3N2 tái tổ hợp, protein dung hợp bao gồm protein hoặc polypeptit H3N2, tế bào biểu hiện protein hoặc polypeptit H3N2 tái tổ hợp, và chất tương tự. Các phần được bọc lộ ngoại bào của các protein hoặc polypeptit này cũng có thể được sử dụng làm nguyên liệu chọn lọc. Mảnh virus cúm H3N2 có thể được cố định vào nguyên liệu thích hợp trước khi sử dụng hoặc có thể được sử dụng trong hỗn dịch. Theo một phương án, việc chọn lọc có thể được tiến hành trên các mảnh khác nhau của virus cúm H3N2 hoặc các mảnh của các chủng virus cúm H3N2 khác nhau. Việc phát hiện ra các tổ hợp chọn lọc thích hợp là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Có thể tiến hành chọn lọc bằng ELISA hoặc FACS.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp thu nhận phân tử liên kết để liên kết đặc hiệu với chủng virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó hoặc phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết này, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: a) thực hiện phương pháp xác định phân tử liên kết đã mô tả trên đây, và b) phân lập phân tử liên kết và/hoặc phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết này từ gói gen có thể sao chép thu hồi được. Tập hợp các phân tử liên kết trên bề mặt của gói gen có thể sao chép có thể là tập hợp các đoạn scFv hoặc Fab. Khi một scFv hoặc Fab mới được tạo thành hoặc được xác định bằng phương pháp xác định phân tử liên kết hoặc các phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết trên đây, ADN mã hóa scFv hoặc Fab này có thể được phân lập từ vi khuẩn hoặc thể thực khuẩn và kết hợp với các kỹ thuật sinh học phân tử chuẩn để thu được các cấu trúc mã hóa scFv, scFv hóa trị hai, Fab hoặc globulin miễn dịch đầy đủ của người

có tính đặc hiệu mong muốn (ví dụ, IgG, IgA hoặc IgM). Các cấu trúc này có thể được chuyển nhiễm vào dòng tế bào thích hợp và cuối cùng các kháng thể đơn dòng đầy đủ của người có thể được tổng hợp (xem tài liệu Huls *et al.*, 1999; Boel *et al.*, 2000).

Như đã nêu trên, gói gen có thể sao chép được ưu tiên là thể thực khuẩn. Các phương pháp biểu hiện thể thực khuẩn để xác định và thu hồi phân tử liên kết (của người), ví dụ các kháng thể đơn dòng (của người), là các phương pháp đã biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các phương pháp này được bộc lộ trong patent Mỹ số 5,696,108; Burton and Barbas, 1994; de Kruif *et al.*, 1995b; và Phage Display: A Laboratory Manual. CF Barbas, DR Burton, JK Scott and GJ Silverman (2001), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. Tất cả các tài liệu viện dẫn này được viện dẫn toàn bộ ở đây. Để xây dựng thư viện biểu hiện thể thực khuẩn, tập hợp các gen của vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể đơn dòng của người được biểu hiện trên bề mặt của thể thực khuẩn, tốt hơn là thể thực khuẩn dạng sợi, hạt, ví dụ ở dạng Fv chuỗi đơn (scFv) hoặc ở dạng Fab (xem tài liệu của Kruif và các đồng tác giả, 1995b). Các thư viện lớn của thể thực khuẩn biểu hiện đoạn kháng thể thường chứa hơn  $1,0 \times 10^9$  kháng thể đặc hiệu và có thể được thu thập từ các vùng V của globulin miễn dịch được biểu hiện trong tế bào lympho B của những người được gây miễn dịch hoặc không được gây miễn dịch. Theo một phương án cụ thể của sáng chế, thư viện thể thực khuẩn của các phân tử liên kết, tốt hơn là thư viện thể thực khuẩn scFv, được tạo thành từ ARN được phân lập từ các tế bào thu được từ đối tượng được tiêm chủng chống lại virus cúm, được tiêm chủng mới đây chống lại tác nhân gây bệnh không có liên quan, mới bị nhiễm virus cúm H3N2 hoặc từ người khỏe mạnh. ARN có thể được phân lập từ tủy xương hoặc máu ngoại vi, tốt hơn là tế bào lympho máu ngoại vi hoặc tế bào B được phân lập hoặc thậm chí các tiểu quần thể của tế bào B như tế bào B nhớ, được xác định là

tế bào CD24+/CD27+ B. Đối tượng này có thể là động vật, tốt hơn là người. Theo một phương án được ưu tiên, các thư viện này có thể được thu thập từ các vùng V của globulin miễn dịch được biểu hiện bởi tế bào B nhớ IgM, được xác định là tế bào IgM+/CD24+/CD27+.

Theo cách khác, thư viện biểu hiện thể thực khuẩn có thể được xây dựng từ các vùng biến đổi của globulin miễn dịch được lắp ráp một phần *in vitro* để tạo ra tính đa dạng kháng thể bổ sung trong thư viện này (thư viện bán tổng hợp). Ví dụ, các vùng biến đổi được thu thập *in vitro* chứa các đoạn của ADN ngẫu nhiên một phần hoặc ngẫu nhiên được tạo ra bằng cách tổng hợp ở các vùng của các phân tử mà quan trọng đối với tính đặc hiệu kháng thể, ví dụ các vùng CDR. Kháng thể thể thực khuẩn đặc hiệu với virus cúm H3N2 có thể được chọn lọc từ thư viện bằng cách cho virus hoặc mảnh của nó tiếp xúc với thư viện thể thực khuẩn để cho phép liên kết các thể thực khuẩn biểu hiện đoạn kháng thể đặc hiệu với virus hoặc mảnh của nó. Các thể thực khuẩn không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa và các thể thực khuẩn đã liên kết được giải hấp để nhiễm vi khuẩn *E.coli* và nhân giống sau đó. Nhiều vòng chọn lọc và nhân giống thường cần thiết để làm giàu đủ các thể thực khuẩn liên kết đặc hiệu với virus hoặc mảnh của chúng. Nếu cần, trước khi cho thư viện thể thực khuẩn tiếp xúc với virus hoặc mảnh của chúng, thư viện thể thực khuẩn có thể trước hết được tách ra bằng cách cho thư viện thể thực khuẩn này tiếp xúc với vật liệu không phải đích như virus hoặc mảnh virus thuộc chủng khác, tức là các chủng virus cúm không phải H3N2. Các virus hoặc mảnh virus tách ra này có thể được liên kết với pha rắn hoặc có thể ở dạng hỗn dịch. Thể thực khuẩn cũng có thể được chọn để liên kết với các kháng nguyên phức như hỗn hợp phức gồm các protein H3N2 hoặc (poly)peptit tùy ý được bổ sung vật liệu khác. Các tế bào chủ biểu hiện một hoặc nhiều protein hoặc (poly)peptit của virus cúm H3N2 cũng có thể được dùng cho mục đích chọn lọc. Phương pháp biểu hiện thể thực khuẩn nhờ các tế bào chủ này có thể được triển khai và được cải thiện bằng cách

loại bỏ các thể liên kết không có liên quan trong quá trình sàng lọc bằng cách bổ sung một lượng dư tế bào chủ chứa các phân tử không phải đích mà tương tự nhưng không giống hệt với đích này, và do đó làm tăng mạnh cơ hội phát hiện các phân tử liên kết có liên quan. Tất nhiên, có thể tiến hành loại bỏ trước, trong hoặc sau khi sàng lọc virus hoặc mảnh của nó. Quá trình này được gọi là quá trình MABSTRACT<sup>®</sup> (MABSTRACT<sup>®</sup> là nhãn hiệu được đăng ký của Crucell Holland B.V., cũng xem patent Mỹ số 6,265,150 mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Cũng theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp thu nhận phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm H3N2 tiềm năng, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: (a) thực hiện phương pháp thu nhận phân tử liên kết liên kết đặc hiệu với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó hoặc phân tử axit nucleic mã hóa phân tử liên kết này như được mô tả trên đây, và (b) kiểm tra xem phân tử liên kết phân lập có hoạt tính trung hòa chống lại virus hay không, tốt hơn là chống lại ít nhất một hoặc nhiều chủng virus cúm H3N2 được chọn từ nhóm bao gồm A/Hong Kong/1/68, A/Johannesburg/33/94, A/Panama/2007/99, A/Wisconsin/67/2005 và A/Hiroshima/52/2005, tốt hơn là chống lại tất cả các chủng H3N2, cụ thể là tất cả các chủng đã biết và các chủng H3N2 trong tương lai. Các thử nghiệm để kiểm tra xem phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa hay không là đã biết trong lĩnh vực này (xem tài liệu: WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva: World Health Organisation, 2005 version 2002.5).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phân tử liên kết của người có hoạt tính trung hòa chống lại ít nhất virus cúm A chứa HA thuộc typ phụ H3 có thể thu được bằng một trong số các phương pháp mô tả trên đây.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa ít nhất một phân tử liên kết, tốt hơn là kháng thể đơn dòng của người theo sáng chế,

ít nhất biến thể chức năng của chúng, ít nhất một thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế và/hoặc hỗn hợp của chúng. Ngoài ra, chế phẩm này có thể chứa, không kể thành phần khác, phân tử làm ổn định, như albumin hoặc polypolyetylen glycol, hoặc muối. Tốt hơn nếu, các muối sử dụng là muối vẫn giữ được hoạt tính sinh học mong muốn của phân tử liên kết và không gây ra các tác dụng độc không mong muốn bất kỳ. Nếu cần, phân tử liên kết của người theo sáng chế có thể được bao trong hoặc trên vật liệu để bảo vệ chúng khỏi tác động của axit hoặc các điều kiện tự nhiên hoặc không tự nhiên khác mà có thể làm bất hoạt phân tử liên kết.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa ít nhất một phân tử axit nucleic như nêu trong bản mô tả của sáng chế. Các chế phẩm này có thể là dung dịch nước như dung dịch nước chứa muối (ví dụ, NaCl hoặc muối như nêu trên), các chất tẩy rửa (ví dụ, SDS) và/hoặc các thành phần thích hợp khác.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa ít nhất một phân tử liên kết như kháng thể đơn dòng của người theo sáng chế (hoặc đoạn chức năng hoặc biến thể của nó), ít nhất một thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế, ít nhất một thành phần theo sáng chế, hoặc hỗn hợp của chúng. Dược phẩm theo sáng chế còn chứa ít nhất một tá dược dược dụng. Tá dược dược dụng là đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Dược phẩm theo sáng chế có thể còn chứa ít nhất một chất điều trị khác. Các chất thích hợp cũng đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo một phương án dược ưu tiên, dược phẩm theo sáng chế chứa ít nhất một phân tử liên kết khác, tức là, dược phẩm có thể là hỗn hợp phân tử liên kết. Dược phẩm này có thể chứa ít nhất hai phân tử liên kết theo sáng chế, hoặc ít nhất một phân tử liên kết theo sáng chế và ít nhất một phân tử liên kết và/hoặc trung hòa virus cúm khác. Theo một phương án khác, phân

tử liên kết khác này có thể được bào chế để dùng liên tục hoặc dùng riêng đồng thời.

Theo một phương án, dược phẩm này có thể chứa hai hoặc nhiều phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm A chứa HA thuộc typ phụ H3, như H3N2. Theo một phương án, phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa hiệp đồng, nếu dùng kết hợp. Nói cách khác, các dược phẩm này có thể chứa ít nhất hai phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa, khác biệt ở chỗ, phân tử liên kết này tác dụng hiệp đồng để trung hòa virus cúm H3N2. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "hiệp đồng" có nghĩa là tác dụng kết hợp của các phân tử liên kết nếu được dùng kết hợp là lớn hơn các tác dụng cộng tính của chúng nếu dùng riêng rẽ. Các phân tử liên kết tác dụng hiệp đồng có thể liên kết với các cấu trúc khác nhau trên các mảnh giống nhau hoặc khác nhau của virus cúm H3N2. Một cách để tính toán mức hiệp đồng là chỉ số kết hợp. Thuật ngữ chỉ số kết hợp (combination index-CI) được mô tả bởi Chou và Talalay (1984). Các chế phẩm này có thể chứa một phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa và một phân tử liên kết đặc hiệu với H3N2 không có hoạt tính trung hòa. Các phân tử liên kết đặc hiệu H3N2 có hoạt tính trung hòa hoặc không có hoạt tính trung hòa có thể cũng tác dụng hiệp đồng để trung hòa virus cúm H3N2.

Theo một phương án, dược phẩm theo sáng chế có thể chứa ít nhất hai phân tử liên kết có khả năng trung hòa virus cúm, trong đó ít nhất một phân tử liên kết có khả năng trung hòa một hoặc nhiều typ phụ của virus cúm thuộc nhóm phả hệ 1 và trong đó ít nhất một phân tử liên kết có khả năng trung hòa một hoặc nhiều typ phụ của virus cúm thuộc nhóm phả hệ 2.

Theo một phương án, dược phẩm có thể chứa ít nhất một phân tử liên kết theo sáng chế và ít nhất một phân tử liên kết trung hòa virus cúm khác.

Theo một phương án khác, tốt hơn nếu phân tử liên kết trung hòa virus cúm khác có khả năng liên kết với và trung hòa virus cúm có typ phụ khác nhau, tốt hơn nếu virus cúm chứa HA của H1, như H1N1, và/hoặc HA của

typ phụ H5, như H5N1, như các phân tử liên kết được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 2008/028946. Thậm chí tốt hơn nữa nếu phân tử liên kết khác này là phân tử liên kết trung hòa chéo chống lại (tất cả) các typ phụ của virus cúm thuộc nhóm phả hệ 1, bao gồm H1, H2, H5, H9. Theo một phương án được ưu tiên, phân tử liên kết khác này là phân tử liên kết được gọi là CR6261 trong công bố đơn quốc tế số WO 2008/028946, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa axit amin 1-121 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 186, hoặc biến thể chức năng của nó, và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa axit amin 1-112 nêu trong SEQ ID NO: 188. Theo một phương án khác, phân tử liên kết chứa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ bao gồm các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 186 và SEQ ID NO: 188, tương ứng. Do đó, tốt hơn là phân tử liên kết trong được phẩm có khả năng phản ứng với virus cúm thuộc các typ phụ khác nhau. Phân tử liên kết cần có ái lực cao và có phổ đặc hiệu rộng. Tốt hơn nếu, cả hai phân tử liên kết là các phân tử trung hòa chéo trong đó mỗi phân tử trung hòa các virus cúm thuộc các typ phụ khác nhau. Ngoài ra, tốt hơn nếu chúng trung hòa càng nhiều chủng thuộc mỗi typ phụ virus cúm khác nhau càng tốt.

Dược phẩm theo sáng chế có thể còn chứa ít nhất một chất điều trị, phòng và/hoặc chẩn đoán. Tốt hơn là, dược phẩm này chứa ít nhất một chất phòng và/hoặc điều trị khác. Tốt hơn là, các chất phòng và/hoặc điều trị khác này là các chất có khả năng phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh nhiễm virus cúm H3N2 và/hoặc tình trạng do nhiễm virus này gây ra. Chất phòng và/hoặc điều trị bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất chống virus. Các chất này có thể là phân tử liên kết, phân tử nhỏ, các hợp chất hữu cơ hoặc vô cơ, enzym, trình tự polynucleotit, peptit kháng virus, v.v.. Các chất khác thường được dùng để điều trị bệnh nhân bị nhiễm virus cúm H3N2 là chất ức chế M2 (ví dụ, amantidin, rimantadin) và/hoặc chất ức chế neuraminidaza (ví dụ, zanamivir, oseltamivir). Các chất này có thể được dùng kết hợp với phân tử liên kết theo sáng chế. Thuật ngữ “dùng kết hợp” ở đây có nghĩa là dùng

đồng thời, ở dạng các chế phẩm riêng, hoặc ở dạng chế phẩm đơn kết hợp, hoặc theo phác đồ dùng liên tục ở dạng các chế phẩm riêng, theo thứ tự bất kỳ. Các chất có khả năng phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh nhiễm virus cúm H3N2 và/hoặc tình trạng bệnh do sự nhiễm virus này gây ra ở giai đoạn thử nghiệm cũng có thể được dùng ở dạng chất phòng và/hoặc điều trị khác hữu dụng trong sáng chế.

Phân tử liên kết hoặc dược phẩm theo sáng chế có thể được thử nghiệm trong hệ thống mô hình động vật thích hợp trước khi dùng cho người. Các hệ thống mô hình động vật này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chuột, chồn và khỉ.

Thông thường, dược phẩm phải được vô trùng và ổn định trong các điều kiện sản xuất và bảo quản. Phân tử liên kết, thể liên hợp miễn dịch, các phân tử axit nucleic hoặc chế phẩm theo sáng chế có thể ở dạng bột để hoàn nguyên trong tá dược được dùng thích hợp trước hoặc tại thời điểm phân phối. Trong trường hợp bột vô trùng để điều chế dung dịch tiêm vô trùng, các phương pháp được ưu tiên để điều chế là làm khô trong chân không và đông khô mà thu được bột hoạt chất cùng với thành phần mong muốn khác bất kỳ từ dung dịch được lọc vô trùng trước của chúng.

Nói cách khác, phân tử liên kết, thể liên hợp miễn dịch, các phân tử axit nucleic hoặc các thành phần theo sáng chế có thể ở dạng dung dịch và tá dược được dùng thích hợp có thể được bổ sung và/hoặc trộn trước khi hoặc ở thời điểm phân phối để thu được dạng tiêm liều đơn vị. Tốt hơn nếu, tá dược được dùng sử dụng trong sáng chế là thích hợp với nồng độ dược chất cao, có thể duy trì độ lỏng thích hợp và, nếu cần, có thể làm chậm hấp thu.

Việc chọn đường sử dụng tối ưu của chế phẩm bị ảnh hưởng bởi một vài yếu tố bao gồm các đặc tính lý hóa của các phân tử có hoạt tính trong chế phẩm, tính khẩn cấp của tình trạng lâm sàng và mối quan hệ của nồng độ các phân tử có hoạt tính trong huyết tương với tác dụng điều trị mong muốn. Ví dụ, nếu cần, phân tử liên kết theo sáng chế có thể được bào chế với chất

mang để bảo vệ chúng khỏi bị giải phóng nhanh, như chế phẩm giải phóng có kiểm soát, bao gồm các mảnh ghép, các miếng dán thẩm thấu qua da, và các hệ phân phối bao vi nang. Các polyme dễ thoái biến sinh học, tương hợp sinh học có thể được sử dụng, như etylen vinyl axetat, polyanhydrit, axit polyglycolic, collagen, polyorthoeste, và axit polylactic. Ngoài ra, có thể cần bao phân tử liên kết bằng chất hoặc hợp chất có tác dụng ngăn ngừa sự bất hoạt phân tử liên kết của người, hoặc dùng đồng thời phân tử liên kết với chất này. Ví dụ, phân tử liên kết có thể được dùng cho đối tượng trong chất mang thích hợp, ví dụ, liposom hoặc chất pha loãng.

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

Dạng dùng qua đường miệng có thể được bào chế dưới dạng viên nén, viên ngậm dẹt, viên hình thoi, hỗn dịch chứa nước hoặc chứa dầu, bột hoặc hạt dễ phân tán, nhũ tương, viên nang cứng, viên nang gelatin mềm, sirô hoặc cồn ngọt, viên tròn, viên bao đường, dung dịch, gel, hoặc hỗn dịch đặc. Các chế phẩm này có thể chứa tá dược bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất pha loãng trơ, chất tạo hạt hoặc chất gây rã, chất kết dính, chất bôi trơn, chất bảo quản, chất tạo màu, chất tạo hương hoặc chất làm ngọt, dầu thực vật hoặc dầu khoáng, chất làm ẩm, và chất làm đặc.

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể được bào chế để dùng ngoài đường tiêu hóa. Chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa có thể ở dạng dung dịch hoặc hỗn dịch để tiêm hoặc truyền không độc vô trùng đẳng trương chứa nước hoặc không chứa nước. Dung dịch hoặc hỗn dịch này có thể chứa các chất không độc với tá dược ở các liều và các nồng độ sử dụng như 1,3-butandiol, dung dịch Ringer, dung dịch Hank, dung dịch natri clorua đẳng trương, dầu, axit béo, chất gây mê cục bộ, chất bảo quản, dung dịch đệm, chất làm tăng độ nhớt hoặc chất làm tăng độ hòa tan, chất chống oxy hóa tan trong nước, chất chống oxy hóa tan trong dầu và chất tạo chelat kim loại.

Theo một khía cạnh khác, phân tử liên kết như các kháng thể đơn dòng của người (đoạn chức năng và biến thể của nó), thể liên hợp miễn dịch, chế phẩm, hoặc được phẩm theo sáng chế có thể được dùng làm thuốc. Vì vậy, phương pháp chẩn đoán, điều trị và/hoặc phòng ngừa nhiễm virus cúm H3N2 bằng các phân tử liên kết, thể liên hợp miễn dịch, chế phẩm, hoặc được phẩm theo sáng chế là một phần khác của sáng chế. Các phân tử nêu trên có thể được dùng để chẩn đoán, phòng, điều trị bệnh nhiễm virus cúm H3N2, hoặc tổ hợp của các mục đích này. Chúng có thể thích hợp để điều trị các bệnh nhân bị nhiễm virus cúm H3N2 không được điều trị khác và bệnh nhân đã hoặc được điều trị bệnh nhiễm virus cúm H3N2.

Các phân tử hoặc chế phẩm nêu trên có thể được dùng kết hợp với các phân tử khác hữu dụng để chẩn đoán, phòng và/hoặc điều trị. Chúng có thể được dùng *in vitro*, *ex vivo* hoặc *in vivo*. Ví dụ, phân tử liên kết như các kháng thể đơn dòng của người (hoặc biến thể chức năng của chúng), thể liên hợp miễn dịch, chế phẩm hoặc được phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng đồng thời với vắc xin chống lại virus cúm H3N2 (nếu có). Theo cách khác, vắc xin này cũng có thể được dùng trước hoặc sau khi dùng các phân tử theo sáng chế. Thay vì vắc xin, chất chống virus cũng có thể được dùng kết hợp với các phân tử liên kết theo sáng chế. Các chất chống virus thích hợp được nêu trên đây.

Các phân tử theo sáng chế thường được bào chế trong chế phẩm hoặc được phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu để điều trị. Theo cách khác, chúng có thể được bào chế và được sử dụng riêng rẽ. Ví dụ, các phân tử khác như các chất kháng virus có thể được sử dụng toàn thân, trong khi phân tử liên kết theo sáng chế có thể được sử dụng qua đường tĩnh mạch.

Có thể tiến hành điều trị cho nhóm bệnh nhân dễ nhiễm H3N2. Các nhóm bệnh nhân này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, người già (ví dụ  $\geq 50$  tuổi,  $\geq 60$  tuổi, và tốt hơn là  $\geq 65$  tuổi), người trẻ (ví dụ  $\leq 5$  tuổi,  $\leq 1$

tuổi), bệnh nhân nằm viện và bệnh nhân đã được điều trị bằng hợp chất chống virus nhưng có phản ứng kháng virus chưa đủ.

Chế độ liều có thể được điều chỉnh để tạo ra đáp ứng mong muốn tối ưu (ví dụ, đáp ứng điều trị). Khoảng liều thích hợp có thể là 0,1-100mg/kg thể trọng, tốt hơn là 1-50mg/kg thể trọng, tốt hơn là 0,5-15mg/kg thể trọng. Ngoài ra, ví dụ, một liều lớn truyền tĩnh mạch nhanh có thể được sử dụng, một vài liều chia có thể được dùng theo thời gian hoặc liều này có thể giảm hoặc tăng theo tỷ lệ tùy theo mức độ khẩn cấp của trường hợp điều trị. Các phân tử và chế phẩm theo sáng chế tốt hơn là được vô trùng. Phương pháp làm vô trùng các phân tử và chế phẩm này là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các phân tử khác hữu dụng để chẩn đoán, phòng và/hoặc điều trị có thể được dùng theo chế độ liều tương tự như đã được đề xuất đối với phân tử liên kết theo sáng chế. Nếu các phân tử khác này được dùng riêng, chúng có thể được dùng cho bệnh nhân trước khi (ví dụ, trước 2 phút, 5 phút, 10 phút, 15 phút, 30 phút, 45 phút, 60 phút, 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 14 giờ, 16 giờ, 18 giờ, 20 giờ, 22 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 7 ngày, 2 tuần, 4 tuần hoặc 6 tuần), đồng thời với, hoặc sau khi (ví dụ, sau 2 phút, 5 phút, 10 phút, 15 phút, 30 phút, 45 phút, 60 phút, 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 14 giờ, 16 giờ, 18 giờ, 20 giờ, 22 giờ, 24 giờ, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 7 ngày, 2 tuần, 4 tuần hoặc 6 tuần) sử dụng một hoặc nhiều phân tử liên kết của người hoặc được phẩm theo sáng chế. Chế độ liều chính xác thường được xác định trong các thử nghiệm lâm sàng ở các bệnh nhân là người.

Phân tử liên kết của người và được phẩm chứa phân tử liên kết của người là đặc biệt hữu dụng, và thường được ưu tiên, khi được dùng cho người dưới dạng chất điều trị *in vivo*, vì đáp ứng miễn dịch ở người nhận với kháng thể sử dụng thường nhỏ hơn đáng kể so với đáp ứng được gây ra bởi việc dùng phân tử liên kết đơn dòng của chuột, thể khảm hoặc được làm tương thích với người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế mô tả việc sử dụng phân tử liên kết như các kháng thể đơn dòng của người có hoạt tính trung hòa (các đoạn chức năng và biến thể của chúng), thể liên hợp miễn dịch, các phân tử axit nucleic, chế phẩm hoặc dược phẩm theo sáng chế để bào chế thuốc để chẩn đoán, phòng, điều trị bệnh nhiễm virus cúm H3N2 hoặc kết hợp các mục đích này.

Sáng chế cũng đề cập đến kit chứa ít nhất một phân tử liên kết như kháng thể đơn dòng của người có hoạt tính trung hòa (các đoạn có chức năng và biến thể của chúng), ít nhất một thể liên hợp miễn dịch, ít nhất một phân tử axit nucleic, ít nhất một chế phẩm, ít nhất một dược phẩm, ít nhất một vector, ít nhất một vật chủ theo sáng chế hoặc hỗn hợp của chúng cũng là một phần của sáng chế. Tùy ý, các thành phần nêu trên của kit theo sáng chế được đóng gói trong đồ chứa thích hợp và được dán nhãn để chẩn đoán, phòng và/hoặc điều trị các tình trạng bệnh đã nêu. Các thành phần nêu trên có thể được bảo quản trong các đồ chứa liều đơn vị hoặc đa liều ở dạng dung dịch nước, tốt hơn là vô trùng, hoặc ở dạng chế phẩm đông khô, tốt hơn là vô trùng, để hoàn nguyên. Các đồ chứa này có thể được làm bằng các vật liệu khác nhau như kính hoặc nhựa và có thể có lỗ nạp vô trùng (ví dụ, đồ chứa có thể là túi dung dịch truyền tĩnh mạch hoặc lọ có nút mà kim tiêm dưới da có thể xuyên qua được). Kit này có thể còn chứa nhiều đồ chứa chứa dung dịch đệm dược dụng. Kit này có thể còn bao gồm các chất khác theo quan điểm của người sử dụng và thị trường, bao gồm các dung dịch đệm khác, chất pha loãng, màng lọc, kim tiêm, bơm tiêm, môi trường nuôi cấy một hoặc nhiều tế bào chủ thích hợp và, thậm chí có thể ít nhất một chất điều trị, phòng hoặc chẩn đoán khác. Kèm theo kit có thể là hướng dẫn sử dụng cho khách hàng trong các gói sản phẩm điều trị, phòng hoặc chẩn đoán trên thị trường để cung cấp thông tin về chỉ định, cách dùng, liều dùng, nhà sản xuất, chống chỉ định và/hoặc các cảnh báo liên quan đến việc dùng các sản phẩm điều trị, phòng hoặc chẩn đoán này.

Phân tử liên kết theo sáng chế cũng có thể được sử dụng thích hợp làm chất chẩn đoán trong phương pháp phát hiện typ phụ virus cúm thuộc nhóm phả hệ 2 *in vitro*. Do đó, sáng chế còn đề cập đến phương pháp phát hiện typ phụ virus cúm thuộc nhóm phả hệ 2 trong mẫu, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: (a) cho mẫu tiếp xúc với một lượng phân tử liên kết hữu hiệu để chẩn đoán (các đoạn có chức năng và biến thể của chúng) hoặc thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế, và (b) xác định xem phân tử liên kết hoặc thể liên hợp miễn dịch có liên kết đặc hiệu với phân tử của mẫu này hay không. Mẫu này có thể là mẫu sinh học bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, mẫu máu, huyết thanh, phân, nước bọt, dịch hút mũi họng, dịch rửa phế quản, nước tiểu, mô hoặc vật liệu sinh học khác thu được từ đối tượng bị nhiễm (tiềm năng), hoặc mẫu không phải mẫu sinh học như nước, đồ uống, v.v.. Các đối tượng bị nhiễm (tiềm năng) có thể là người, nhưng cũng có thể là động vật được nghi ngờ là vật mang virus cúm typ phụ thuộc nhóm phả hệ 2 có thể được thử nghiệm để kiểm tra sự có mặt virus nhờ phân tử liên kết của người hoặc thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế. Mẫu này có thể được trước hết được xử lý để làm cho nó thích hợp hơn cho phương pháp phát hiện. Việc xử lý này có nghĩa là xử lý mẫu bị nghi ngờ chứa virus theo cách sao cho virus này sẽ phân hủy thành các thành phần kháng nguyên như protein, (poly)peptit hoặc các đoạn kháng nguyên khác. Tốt hơn là, phân tử liên kết của người hoặc thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế được tiếp xúc với mẫu này trong các điều kiện cho phép tạo thành phức hợp miễn dịch giữa phân tử liên kết của người và virus hoặc các thành phần kháng nguyên của chúng có thể có mặt trong mẫu. Sự tạo thành phức hợp miễn dịch, nếu có, chứng tỏ sự có mặt virus này trong mẫu, sau đó được phát hiện và được đánh giá bằng thiết bị thích hợp. Các phương pháp này bao gồm, không kể các phương pháp khác, các thử nghiệm miễn dịch liên kết thuần nhất hoặc không thuần nhất, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (radio-immunoassays-RIA),

ELISA, miễn dịch huỳnh quang, hóa mô miễn dịch, FACS, BIACORE và phân tích thẩm tách Western.

Các kỹ thuật thử nghiệm được ưu tiên, đặc biệt để sàng lọc lâm sàng trên quy mô lớn đối với huyết thanh và máu và các sản phẩm thu được từ máu của bệnh nhân là ELISA và kỹ thuật thẩm tách Western. Các thử nghiệm ELISA được ưu tiên đặc biệt. Để dùng làm các chất thử nghiệm trong các thử nghiệm này, phân tử liên kết hoặc thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế được liên kết thích hợp với bề mặt trong của các lỗ của đĩa vi chuẩn. Phân tử liên kết hoặc thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế có thể được liên kết trực tiếp với lỗ của đĩa vi chuẩn. Tuy nhiên, mức độ liên kết tối đa của phân tử liên kết hoặc thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế với các lỗ có thể được tiến hành bằng cách xử lý trước các lỗ này bằng polylysin trước khi bổ sung phân tử liên kết hoặc thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế. Hơn thế nữa, phân tử liên kết hoặc thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế có thể liên kết đồng hóa trị với các lỗ bằng cách đã biết. Nói chung, phân tử liên kết hoặc thể liên hợp miễn dịch được dùng với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 100µg/ml để phủ trong các lỗ, mặc dù lượng cao hơn cũng như là lượng thấp hơn cũng có thể được sử dụng. Sau đó, các mẫu được bổ sung vào các lỗ đã phủ phân tử liên kết hoặc thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế.

Hơn thế nữa, phân tử liên kết theo sáng chế có thể được dùng để xác định các cấu trúc liên kết đặc hiệu của virus cúm H3N2. Các cấu trúc liên kết có thể là epitop trên protein và/hoặc polypeptit. Chúng có thể là mạch thẳng, nhưng cũng có thể là cấu trúc và/hoặc cấu hình. Theo một phương án, các cấu trúc gắn kết có thể được phân tích bằng các phương pháp phân tích PEPSCAN (cũng xem tài liệu WO 84/03564, WO 93/09872, Slootstra *et al.*, 1996). Theo cách khác, thư viện peptit ngẫu nhiên bao gồm peptit từ protein của virus cúm H3N2 có thể được sàng lọc peptit có khả năng liên kết với phân tử liên kết theo sáng chế. Các cấu trúc/peptit/epitop phát hiện được có thể được dùng làm vacxin và để chẩn đoán bệnh nhiễm virus cúm H3N2.

Trong trường hợp các đoạn không phải protein và/hoặc polypeptit được liên kết bởi phân tử liên kết, các cấu trúc liên kết có thể được xác định bằng phổ khối, sắc ký lỏng hiệu năng cao và cộng hưởng từ hạt nhân.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp sàng lọc phân tử liên kết (đoạn chức năng hoặc biến thể của nó) để liên kết đặc hiệu với epitop này của virus cúm H3N2, epitop được liên kết bởi phân tử liên kết của người theo sáng chế, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: (a) cho phân tử liên kết cần sàng lọc tiếp xúc với phân tử liên kết theo sáng chế và virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó, (b) xác định xem phân tử liên kết cần sàng lọc có khả năng cạnh tranh với phân tử liên kết theo sáng chế để liên kết đặc hiệu với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó hay không. Theo một bước khác, có thể xác định xem phân tử liên kết đã sàng lọc có khả năng cạnh tranh để liên kết đặc hiệu với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó có hoạt tính trung hòa hay không. Phân tử liên kết có khả năng cạnh tranh để liên kết đặc hiệu với virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó với phân tử liên kết theo sáng chế là một phần khác của sáng chế. Trong phương pháp sàng lọc mô tả trên đây, “liên kết đặc hiệu với cùng một epitop” cũng được dùng để chỉ liên kết đặc hiệu với epitop về cơ bản hoặc gần như giống với epitop được liên kết bởi phân tử liên kết theo sáng chế. Khả năng phong bế, hoặc cạnh tranh với, sự liên kết phân tử liên kết theo sáng chế với virus cúm H3N2 thường chỉ ra rằng phân tử liên kết cần sàng lọc liên kết với epitop hoặc vị trí liên kết trên virus cúm H3N2 phù chồng về cấu trúc với vị trí liên kết trên virus cúm H3N2 được nhận biết đặc hiệu miễn dịch bởi phân tử liên kết theo sáng chế. Theo cách khác, điều này có thể cho thấy rằng phân tử liên kết cần sàng lọc liên kết với epitop hoặc vị trí liên kết đủ gần với vị trí liên kết được nhận biết đặc hiệu miễn dịch bởi phân tử liên kết theo sáng chế để ức chế về mặt không gian hoặc mặt khác sự liên kết phân tử liên kết theo sáng chế với virus cúm H3N2.

Nói chung, mức độ ức chế cạnh tranh được đánh giá bằng cách thử nghiệm, trong đó chế phẩm kháng nguyên, tức là chế phẩm chứa virus cúm H3N2 hoặc mảnh của nó, được trộn với phân tử liên kết đối chứng, tức là phân tử liên kết theo sáng chế, và phân tử liên kết cần sàng lọc. Thông thường, phân tử liên kết cần sàng lọc có mặt với lượng dư. Các quy trình dựa trên ELISA và tách Western là thích hợp để dùng trong các thử nghiệm cạnh tranh đơn này. Bằng cách sử dụng các loài hoặc các kháng thể thứ cấp isotyp, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này chỉ có thể phát hiện được phân tử liên kết đối chứng đã liên kết, mức độ liên kết này sẽ bị giảm khi có mặt phân tử liên kết cần sàng lọc nhận biết gần như cùng một epitop. Khi tiến hành thử nghiệm cạnh tranh phân tử liên kết giữa phân tử liên kết đối chứng và phân tử liên kết bất kỳ cần sàng lọc (không kể loài hoặc isotyp), người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể trước hết đánh dấu phân tử liên kết đối chứng bằng chất đánh dấu dễ phát hiện, như biotin, chất đánh dấu có hoạt tính enzym, có hoạt tính phóng xạ hoặc chất đánh dấu khác để có thể xác định được tiếp theo. Phân tử liên kết được xác định bằng các thử nghiệm cạnh tranh này (“phân tử liên kết cạnh tranh” hoặc “phân tử liên kết phản ứng chéo”) bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kháng thể, đoạn kháng thể và chất liên kết khác mà liên kết với epitop hoặc vị trí liên kết đã liên kết bởi phân tử liên kết đối chứng, tức là phân tử liên kết theo sáng chế, cũng như là kháng thể, đoạn kháng thể và chất liên kết khác mà liên kết với epitop hoặc vị trí liên kết đủ gần với epitop đã liên kết với phân tử liên kết đối chứng để sự liên kết cạnh tranh giữa phân tử liên kết cần sàng lọc và phân tử liên kết đối chứng xảy ra. Tốt hơn là, phân tử liên kết cạnh tranh theo sáng chế, nếu có mặt với lượng dư, sẽ ức chế sự liên kết đặc hiệu giữa phân tử liên kết đối chứng với loài đích được chọn ít nhất là 10%, tốt hơn là ít nhất 25%, tốt hơn nữa là ít nhất 50%, và tốt nhất là ít nhất 75%-90% hoặc thậm chí ức chế với tỷ lệ cao hơn. Việc xác định một hoặc nhiều phân tử liên kết cạnh tranh mà liên kết với, hầu như, về cơ

bản hoặc ở epitop giống với phân tử gắn kết theo sáng chế là một vấn đề kỹ thuật dễ hiểu. Vì việc xác định phân tử liên kết cạnh tranh được xác định so với phân tử liên kết đối chứng, tức là phân tử liên kết theo sáng chế, cần hiểu rằng thực tế việc xác định epitop mà phân tử liên kết đối chứng và phân tử liên kết cạnh tranh liên kết với không phải là theo cách bất kỳ cần thiết để xác định phân tử liên kết cạnh tranh mà liên kết với epitop giống hoặc gần như giống với phân tử liên kết đối chứng. Sáng chế còn được minh họa trong các ví dụ và hình vẽ dưới đây. Các ví dụ này không nhằm làm giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

Ví dụ 1. Xây dựng thư viện biểu hiện thể thực khuẩn scFv bằng cách sử dụng ARN chiết từ các tế bào B nhớ

Máu ngoại biên được lấy từ người cho khỏe mạnh bình thường bằng cách chích tĩnh mạch vào các ống mẫu chống đông bằng EDTA. Thư viện biểu hiện thể thực khuẩn scFv được thu thập như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 2008/028946, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Các tế bào B nhớ (CD24+/CD27+) được tách ra từ các tế bào B nguyên thể (CD24+/CD27-) và các tế bào T nhớ (CD24-/CD27+) và trong bước tiếp theo, các tế bào B nhớ biểu hiện IgM (IgM+) được tách ra từ các tế bào B nhớ chuyển đổi (IgM-) nhờ sự biểu hiện IgM. ARN được phân lập từ các tế bào B nhớ biểu hiện IgM và ADN bổ trợ điều chế được.

Phương pháp khuếch đại PCR hai vòng được sử dụng nhờ các bộ mẫu được thể hiện trong bảng 1 và 2 để phân lập các vùng VH và VL của globulin miễn dịch từ kho cho tương ứng.

Khuếch đại vòng thứ nhất trên ADN bổ trợ tương ứng nhờ các bộ mẫu nêu trong bảng 1 thu được 7, 6 và 9 sản phẩm có 650 cặp bazơ tương ứng với các vùng VH, Vkapa và Vlamda. Để khuếch đại vùng VH của IgM thể hiện trên tế bào B nhớ, mỗi cổ định OCM được dùng kết hợp với OH1 đến

OH7. Chương trình chu trình nhiệt của bước khuếch đại vòng thứ nhất là: 2 phút 96°C (bước biến tính), 30 chu kỳ gồm kéo dài lần cuối 30 giây ở nhiệt độ 96°C/30 giây ở nhiệt độ 55°C/60 giây ở nhiệt độ 72°C, 10 phút ở nhiệt độ 72°C và làm lạnh ở nhiệt độ 4°C. Các sản phẩm được đưa lên và tách ra từ gel agarosa 1% bằng cách sử dụng cột chiết gel (Qiagen) và được giải hấp trong 50µl Tris-HCl 1mM, độ pH= 8,0. 10% sản phẩm của vòng thứ nhất (5µl) được đưa vào bước khuếch đại vòng thứ hai bằng cách sử dụng các môi nêu trong bảng 2. Các môi này được kéo dài bằng các vị trí giới hạn cho phép tách dòng định hướng các vùng VL và VH tương ứng vào vector biểu hiện thể thực khuẩn PDV-C06. Chương trình PCR để khuếch đại vòng hai là như sau: 2 phút ở nhiệt độ 96°C (bước biến tính), 30 chu kỳ bao gồm kéo dài lần cuối 30 giây ở nhiệt độ 96°C/30 giây ở nhiệt độ 60°C/60 giây ở nhiệt độ 72°C, 10 phút ở nhiệt độ 72°C và làm lạnh ở nhiệt độ 4°C. Các sản phẩm của vòng thứ hai (~350 cặp bazơ) trước hết được thu gom theo nguồn gốc tự nhiên của phân đoạn J được tìm thấy trong các sản phẩm gen của globulin miễn dịch, thu được 7, 6 và 9 sản phẩm tương ứng với các vùng biến đổi của VH, Vkapa và Vlamda (xem bảng 3 và 4). Để thu được sự phân bố chuẩn hóa các trình tự của globulin miễn dịch trong thư viện miễn dịch, 6 nhóm chuỗi nhẹ Vkapa và 9 nhóm Vlamda được trộn theo tỷ lệ phần trăm được nêu trong bảng 3. Nhóm VL cuối cùng này (3µg) được phân cắt qua đêm bằng các enzym cắt giới hạn SalI và NotI, được đưa lên và tách ra từ gel agarosa 1,5% (~350 cặp bazơ) bằng cách sử dụng cột chiết gel Qiagen và được nối trong vector PDV-C06 được cắt bằng SalI-NotI (~5000 cặp bazơ) như sau: 10µl vector PDV-C06 (50 ng/µl), 7µl đoạn chèn VL (10ng/µl), 5µl dung dịch đệm nối 10X (NEB), 2,5 T4 ADN Ligaza (400U/µl) (NEB), 25,5µl nước siêu tinh khiết (tỷ lệ vector so với đoạn chèn là 1:2). Tiến hành nối qua đêm trong bể nước có nhiệt độ 16°C. Tiếp đó, thể tích được tăng lên gấp đôi bằng nước, chiết bằng phenol-clorofom-rượu isoamylic với thể tích tương đương (75:24:1) (Invitrogen), sau đó chiết bằng clorofom (Merck) và

kết tủa bằng 1μl Pellet Paint (Novogen), 10μl natri axetat (3M, pH= 5,0) và 100μl isopropanol trong 2 giờ ở nhiệt độ -20°C. Mẫu thu được được ly tâm tiếp theo ở tốc độ 20.000xg trong 30 phút ở nhiệt độ 4°C. Chất kết tủa thu được được rửa bằng etanol 70% và được ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 20.000xg ở nhiệt độ phòng. Etanol được loại bỏ bằng cách hút chân không và viên vón được làm khô trong không khí trong vài phút và sau đó hòa tan trong 50μl dung dịch đệm chứa 10mM Tris-HCl, pH 8,0. 1μl hỗn hợp nổi được dùng để biến nạp 40μl tế bào có khả năng bị biến nạp bằng tạo lỗ bằng điện TG-1 (Stratagene) trong cuvet tạo lỗ bằng điện có kích thước 0,1cm đã làm lạnh (Biorad) nhờ thiết bị Genepulser II (Biorad) được cài đặt ở 1,7kV, 200Ohm, 25μF (thời gian cố định ~4,5 mili giây). Sau khi gây xung trực tiếp, vi khuẩn được rửa khỏi cuvet bằng 1000μl môi trường SOC (Invitrogen) chứa 5% (trọng lượng/thể tích) glucoza (Sigma) ở nhiệt độ 37°C và được chuyển sang ống nuôi cấy đáy tròn có dung tích 15ml. 500μl SOC/glucoza khác được dùng để rửa vi khuẩn còn lại khỏi cuvet và được bổ sung vào ống nuôi cấy. Vi khuẩn được thu hồi bằng cách nuôi cấy trong chính xác 1 giờ ở nhiệt độ 37°C trong tủ ủ khuấy ở tốc độ 220 vòng/phút. Vi khuẩn đã biến nạp được cấy trên các đĩa petri lớn có kích thước 240mm vuông (NUNC) chứa 200ml thạch 2TY (16g/l bacto-trypton, 10g/l dịch chiết bacto-nấm men, 5g/l NaCl, 15g/l thạch, độ pH=7,0) được bổ sung 50μg/ml ampicilin và 5% (trọng lượng/thể tích) glucoza (Sigma). Dung dịch được pha loãng theo tỷ lệ 1 trên 1000 được cấy để đếm trên các đĩa petri có kích thước 15cm chứa cùng loại môi trường. Quy trình biến nạp này được lặp lại liên tục 20 lần và thư viện đầy đủ được cấy trên tổng số 30 đĩa petri vuông lớn và được nuôi qua đêm trong tủ nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C. Thông thường, khoảng  $1 \times 10^7$  cfu thu được nhờ quy trình trên đây. Thư viện chuỗi nhẹ VL trung gian được thu hoạch từ các đĩa bằng cách cào nhẹ vi khuẩn vào 10ml môi trường 2TY mỗi đĩa. Lượng tế bào của vi khuẩn được đếm bằng cách đo

ở OD600 và đo hai lần ở 500 OD được dùng để điều chế ADN plasmid tối đa nhờ hai cột maxiprep P500 (Qiagen) theo chỉ dẫn của nhà sản xuất.

Tương tự với vùng biến đổi VL, các sản phẩm VH-JH của vòng thứ hai trước hết được trộn với nhau để đạt được mức phân bố thường lệ của đoạn J thông thường (xem bảng 4), thu được 7 nhóm phụ VH được gọi là PH1 đến PH7. Các nhóm được trộn để đạt được mức phân bố trình tự chuẩn hóa bằng cách sử dụng các tỷ lệ phần trăm nêu trong bảng 4, thu được một phân đoạn VH, phân đoạn này được cắt bằng các enzym giới hạn SfiI và XhoI và được nối trong thư viện trung gian PDV-VL đã cắt bằng SfiI-XhoI thu được như mô tả trên đây. Quá trình nối, tinh chế, sau đó biến nạp TG1 và thu hoạch vi khuẩn được thực hiện chính xác như mô tả đối với thư viện trung gian VL (xem phần trên đây). Thư viện cuối cùng (khoảng  $5 \times 10^6$  cfu) được kiểm tra tần xuất chèn bằng quy trình PCR khuôn lạc bằng cách sử dụng cặp mồi nằm cạnh các vùng VH-VL đã chèn vào. Hơn 95% sản phẩm PCR khuôn lạc có đoạn chèn có chiều dài chính xác (xem bảng 5). Các sản phẩm PCR khuôn lạc được dùng để phân tích trình tự ADN tiếp theo để kiểm tra sự thay đổi trình tự và để đánh giá tỷ lệ phần trăm khuôn lạc có ORF đầy đủ. Tỷ lệ này thường là trên 70% (xem bảng 5). Tần xuất đột biến ở các gen V cũng được phân tích. Trong số 50 trình tự, 47 trình tự (94%) không có trong cấu trúc dòng tế bào mầm cho thấy có sự đột biến và phù hợp với kiểu hình nhớ của các tế bào B được dùng làm nguồn ARN cho thư viện này. Cuối cùng, thư viện này được giải phóng và khuếch đại bằng cách sử dụng thể thực khuẩn trợ giúp CT (xem công bố đơn quốc tế số WO 02/103012) và được dùng để chọn lọc kháng thể thể thực khuẩn bằng các phương pháp sàng lọc như được mô tả dưới đây.

#### Ví dụ 2

Chọn lọc thể thực khuẩn mang các đoạn Fv chuỗi đơn kháng các typ phụ H3 và H7 của virus cúm A và virus cúm B

Các đoạn kháng thể được chọn nhờ thư viện biểu hiện kháng thể thể thực khuẩn được xây dựng về cơ bản như được mô tả trên đây và công nghệ biểu hiện thể thực khuẩn nói chung và công nghệ MABSTRACT® về cơ bản như được mô tả trong patent Mỹ số 6 265 150 và trong công bố đơn quốc tế số WO 98/15833 (cả hai tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Ngoài ra, các phương pháp và thể thực khuẩn trợ giúp như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 02/103012 (được đưa vào đây bằng cách viện dẫn) được sử dụng trong sáng chế.

Quá trình chọn lọc được tiến hành đối với hemagglutinin tái tổ hợp (HA) của typ phụ H3 của virus cúm A (A/Wisconsin/67/2005) và typ phụ H7 của virus cúm A (A/Netherlands/219/2003) hoặc virus cúm B (B/Ohio/01/2005). Các kháng nguyên HA được pha loãng trong PBS (5,0µg/ml), bổ sung vào các ống MaxiSorp™ Nunc-Immuno (Nunc) và ủ qua đêm ở nhiệt độ 4°C trên bánh quay. Các ống miễn dịch được làm trống và rửa ba lần trong dung dịch đệm phong bế (2% sữa khô không béo (ELK) trong PBS). Sau đó, các ống miễn dịch được nạp đầy dung dịch đệm phong bế và ủ trong 1-2 giờ ở nhiệt độ phòng. Các phân ước của thư viện biểu hiện thể thực khuẩn (500-1000µl,  $0,5 \times 10^{13}$  –  $1 \times 10^{13}$  cfu, đã khuếch đại bằng cách sử dụng thể thực khuẩn trợ giúp CT (xem công bố đơn quốc tế số WO 02/103012)) được phong bế trong dung dịch đệm phong bế có bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò không được bất hoạt không gia nhiệt và 2% huyết thanh chuột trong 1-2 giờ ở nhiệt độ phòng. Thư viện thể thực khuẩn đã phong bế được bổ sung vào các ống miễn dịch, ủ trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng, và rửa bằng dung dịch đệm rửa (0,05% (thể tích/thể tích) Tween-20 trong PBS) để loại bỏ các thể thực khuẩn không liên kết. Các thể thực khuẩn đã liên kết được giải hấp khỏi kháng nguyên tương ứng bằng cách ủ với 1ml triethylamin 100mM (TEA) trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, các thể thực khuẩn đã giải hấp được trộn với 0,5ml Tris-HCl 1M độ pH=7,5 để trung hòa độ pH. Hỗn hợp này được dùng để gây nhiễm 5ml chủng nuôi cấy XL1-

Blue *E.coli* đã được nuôi ở nhiệt độ 37°C đến OD 600nm xấp xỉ 0,3. Các thể thực khuẩn được cho nhiễm vi khuẩn XL1-Blue trong 30 phút ở nhiệt độ 37°C. Sau đó, hỗn hợp này được ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 3000xg ở nhiệt độ trong phòng và viên vón tế bào được tạo huyền phù trong 0,5ml môi trường dịch chiết nấm men 2-trypton (2TY). Huyền phù vi khuẩn thu được được chia vào hai đĩa thạch 2TY được bổ sung tetracyclin, ampicilin và glucoza. Sau khi ủ qua đêm các đĩa này ở nhiệt độ 37°C, lấy các khuẩn lạc ra khỏi các đĩa để điều chế thư viện giàu thể thực khuẩn, về cơ bản như được mô tả bởi De Kruif và các đồng tác giả (1995a) và công bố đơn quốc tế số WO 02/103012. Nói tóm lại, vi khuẩn đã lấy ra được sử dụng để cấy vào môi trường 2TY chứa ampicilin, tetracyclin và glucoza và được nuôi ở nhiệt độ 37°C đến OD 600nm ~0,3. Các thể thực khuẩn trợ giúp CT được bổ sung và được gây nhiễm vi khuẩn sau khi thay môi trường này bằng 2TY chứa ampicilin, tetracyclin và kanamycin. Tiếp tục ủ qua đêm ở nhiệt độ 30°C. Ngày tiếp theo, lấy vi khuẩn khỏi môi trường 2TY bằng cách ly tâm sau khi các thể thực khuẩn trong môi trường này được kết tủa nhờ polypolyetylen glycol (PEG) 6000/NaCl. Cuối cùng, hòa tan các thể thực khuẩn trong 2ml PBS chứa 1% albumin huyết thanh bò (BSA), lọc vô trùng và sử dụng cho vòng chọn lọc tiếp theo. Vòng chọn lọc thứ hai được tiến hành trên cùng typ phụ HA hoặc trên HA thuộc typ phụ khác.

Hai vòng chọn lọc liên tiếp được tiến hành trước khi phân lập các kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn riêng rẽ. Sau vòng chọn lọc thứ hai, các khuẩn lạc riêng của *E.coli* được dùng để điều chế kháng thể thể thực khuẩn đơn dòng. Về cơ bản, các khuẩn lạc riêng biệt được nuôi đến pha loga trong đĩa có 96 lỗ và được gây nhiễm thể thực khuẩn trợ giúp VCS-M13, sau đó quá trình tổng hợp kháng thể thể thực khuẩn xảy ra qua đêm. Các dịch nổi chứa kháng thể thể thực khuẩn được dùng trực tiếp trong ELISA để liên kết với các kháng nguyên HA. Theo cách khác, các kháng thể thể thực khuẩn

được kết tủa bằng PEG/NaCl và lọc vô trùng đối với cả phân tích đếm tế bào theo dòng và Elisa.

### Ví dụ 3

Đánh giá các kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn đặc hiệu HA

Dịch nổi đã chọn chứa các kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn thu được trong các phương pháp sàng lọc mô tả trên đây được kiểm tra tính đặc hiệu trong thử nghiệm ELISA, tức là liên kết với các kháng nguyên HA khác nhau. Đối với mục đích này, baculovirut biểu hiện HA của typ phụ H3 tái tổ hợp (A/Wisconsin/67/2005), H7 (A/Netherlands/219/2003) và virut cúm B (B/Ohio/01/2005) (Protein Sciences, CT, USA) được phủ trên đĩa Maxisorp<sup>TM</sup> ELISA. Sau khi phủ, các đĩa này được rửa ba lần bằng PBS chứa 0,1% thể tích/thể tích Tween-20 và được phong bế trong PBS chứa 3% BSA hoặc 2% ELK trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Các kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn đã chọn được ủ trong 1 giờ trong thể tích PBS tương đương chứa 4% ELK để thu được kháng thể thể thực khuẩn được phong bế. Các đĩa được làm trống, rửa ba lần bằng PBS/0,1% Tween-20 và bổ sung các kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn đã phong bế vào các lỗ. Ủ trong 1 giờ, rửa các đĩa này bằng PBS/0,1% Tween-20 và các kháng thể thể thực khuẩn đã liên kết được phát hiện (bằng cách đo OD 492nm) sử dụng kháng thể kháng M13 được liên hợp với peroxidaza. Một quy trình được tiến hành đồng thời mà không sử dụng kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn và sử dụng kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn đối chứng âm không liên quan được dùng làm quy trình đối chứng. Từ việc chọn lọc các kháng nguyên HA khác nhau và thu viện tế bào B nhớ biểu hiện IgM, 6 kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn duy nhất đặc hiệu với cả HA của H3 và HA của H7 tái tổ hợp được thu nhận (SC08-001, SC08-003, SC08-006, SC08-014, SC08-017 và SC08-018). Ngoài ra, 2 kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn duy nhất đặc hiệu với HA của H3 tái tổ hợp (SC08-015 và SC08-016) và 5 kháng thể thể thực khuẩn

chuỗi đơn đặc hiệu với HA của H7 tái tổ hợp (SC08-007, SC08-009, SC08-010, SC08-011 và SC08-013) được phân lập. Xem bảng 6.

Theo cách khác, các kháng thể thể thực khuẩn được kết tủa bằng PEG/NaCl và lọc vô trùng được dùng để đánh giá khả năng liên kết trong thử nghiệm elisa và tính đặc hiệu. Đối với mục đích này, baculovirus biểu hiện HA của typ phụ H1 của virus cúm A tái tổ hợp (A/New Caledonia/20/1999), typ phụ H3 của virus cúm A (A/Wisconsin/67/2005), typ phụ H5 của virus cúm A (A/Vietnam/1203/2004), typ phụ H7 của virus cúm A (A/Netherlands/219/2003) và virus cúm B (B/Ohio/01/2005, B/Malaysia/2506/2004, B/Jilin/219/2003) (Protein Sciences, CT, USA) được phủ trên đĩa Maxisorp™ ELISA. Sau khi phủ, rửa các đĩa này ba lần bằng PBS chứa 0,1% thể tích Tween-20 và phong bế trong PBS chứa 3% BSA hoặc 2% ELK trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Các kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn đã chọn được ủ trong 1 giờ trong PBS với thể tích tương đương chứa 4% ELK để thu được các kháng thể thể thực khuẩn đã phong bế. Các đĩa này được làm trống, rửa ba lần bằng PBS/0,1% Tween-20 và các kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn đã phong bế được bổ sung vào các lỗ. Ủ trong 1 giờ, rửa các đĩa bằng PBS/0,1% Tween-20 và các kháng thể thể thực khuẩn đã liên kết được phát hiện (nhờ đo OD 492nm) bằng cách sử dụng kháng thể kháng M13 được liên hợp với peroxidaza. Quy trình được tiến hành đồng thời không sử dụng kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn và sử dụng kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn đối chứng âm tính được dùng làm quy trình đối chứng. Từ việc chọn lọc các kháng nguyên HA khác nhau bằng thư viện tế bào B nhớ biểu hiện IgM, 2 kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn duy nhất đặc hiệu với HA của H1, H3 và H7 tái tổ hợp được thu nhận (SC08-001 và SC08-014). Ngoài ra, 6 kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn duy nhất đặc hiệu với HA của H3 tái tổ hợp (SC08-003, SC08-006, SC08-015, SC08-016, SC08-017 và SC08-018), và 5 kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn duy nhất

đặc hiệu với HA của H7 tái tổ hợp (SC08-007, SC08-009, SC08-010, SC08-011 và SC08-013) được phân lập. Xem bảng 7.

Theo cách khác, các kháng thể thể thực khuẩn được kết tủa bằng PEG/NaCl và lọc vô trùng được dùng để đánh giá khả năng liên kết và tính đặc hiệu bằng phân tích FACS. Đối với mục đích này, HA của các typ phụ H1 của virus cúm A tái tổ hợp có chiều dài đủ (A/New Caledonia/20/1999), H3 (A/Wisconsin/67/2005), H5 (TV), H7 (A/Netherlands/219/2003) và virus cúm B (B/Ohio/01/2005) được biểu hiện trên bề mặt tế bào PER.C6. Các tế bào này được ủ với các kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn trong 1 giờ, sau đó là thực hiện ba bước rửa bằng PBS+0,1% BSA. Các thể thực khuẩn đã liên kết được phát hiện nhờ kháng thể kháng M13 được liên hợp FITC. Từ các vòng chọn lọc trên kháng nguyên HA khác nhau với thư viện tế bào B nhớ biểu hiện IgM, một kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn đặc hiệu với HA của các typ phụ của virus cúm A H1, H3 và H7 được phân lập (SC08-001). Ngoài ra, 6 kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn duy nhất đặc hiệu với HA của typ phụ H3 (SC08-003, SC08-006, SC08-015, SC08-016, SC08-017 và SC08-018), 4 kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn duy nhất đặc hiệu với HA của typ phụ H7 (SC08-007, SC08-010, SC08-011 và SC08-013) được phân lập. Xem bảng 8. Trong số này, sáu kháng thể thể thực khuẩn (SC08-001, SC08-003, SC08-015, SC08-016, SC08-017, SC08-018) được dùng để thiết kế globulin miễn dịch đầy đủ của người để xác định đặc điểm khác (xem ví dụ 5).

#### Ví dụ 4

Chọn lọc và đánh giá các dòng tế bào B được làm bất tử đặc hiệu HA cúm A (H3N2)

Ngoài biểu hiện thể thực khuẩn, phân tử liên kết theo sáng chế cũng có thể được phân lập bằng các phương pháp khác, ví dụ bằng cách sử dụng các tế bào B được làm bất tử như mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 2007067046. Các tế bào nhớ biểu hiện IgM được làm bất tử

(CD19+/CD27+, IgD+) thu được từ những người cho đã tiêm chủng, được nhuộm bằng HA của typ phụ H3 được đánh dấu APC và tế bào đơn được chọn vào dịch nuôi cấy pha loãng giới hạn. Sau khi thu hồi và phát triển tế bào, dịch nổi của các tế bào đã chọn theo HA của H3 được đánh giá bằng ELISA pha rắn về khả năng phản ứng miễn dịch của H1, H3 và H7.

Sau đó, các tế bào B đặc hiệu đích được xác định hoạt tính gắn kết và khả năng trung hòa. Các tế bào B được tách dòng bằng cách pha loãng giới hạn để thu được các dòng đơn. Các dòng này được nuôi cấy vào các đĩa chứa môi trường nuôi cấy và các tế bào được nuôi cấy trong 14 ngày. Dịch nổi của các dòng này được sàng lọc để tổng hợp các kháng thể đơn dòng kháng HA mà liên kết với các tế bào 293 được chuyển nhiễm HA biểu hiện HA có nguồn gốc H1, H3, H5 và H7. Các tế bào 293 không được chuyển nhiễm được dùng làm mẫu đối chứng về tính đặc hiệu và nhuộm nền.

Để xác định xem dịch nổi của dòng tế bào B đã chọn chứa kháng thể IgM hoặc IgG thu được trong các phương pháp sàng lọc được mô tả trên đây có khả năng ức chế sự nhiễm virus cúm A (H3N2) hay không, thử nghiệm trung hòa virus *in vitro* (virus neutralization assay-VNA) được tiến hành. VNA được tiến hành trên các tế bào MDCK (ATCC CCL-34). Các tế bào MDCK được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy tế bào MDCK (môi trường MEM được bổ sung chất kháng sinh, Hepes 20mM và natri bicarbonat 0,15% (trọng lượng/thể tích) (môi trường MEM đầy đủ) có bổ sung 10% (thể tích/thể tích) huyết thanh bào thai bò). Chủng H3N2 (A/Wisconsin/67/2005) sử dụng trong thử nghiệm này được pha loãng đến hiệu giá  $5,7 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/ml (liều gây nhiễm 50% dịch nuôi cấy mô cho mỗi ml), trong đó hiệu giá được tính toán theo phương pháp của Spearman và Karber. Các chế phẩm IgG hoặc IgM được pha loãng liên tiếp hai lần (1:2 - 1:64) trong môi trường MEM đầy đủ trong 4 lỗ. 25µl dịch pha loãng IgG tương ứng được trộn với 25µl huyền phù virus (100 TCID<sub>50</sub>/25µl) và ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C. Sau đó, chuyển huyền phù này vào bốn lỗ của đĩa có 96 lỗ chứa các

dịch nuôi cấy MDCK hợp dòng trong 50µl môi trường MEM đầy đủ. Trước khi sử dụng, các tế bào MDCK được cấy ở mức  $3 \times 10^4$  tế bào mỗi lỗ trong môi trường nuôi cấy tế bào MDCK, phát triển cho đến khi tế bào đạt đến mức hợp dòng, rửa bằng 300-350µl PBS, độ pH 7,4 và cuối cùng bổ sung 50µl môi trường MEM đầy đủ vào mỗi lỗ. Các tế bào đã cấy được nuôi cấy trong 3-4 ngày ở nhiệt độ 37°C và quan sát hằng ngày về sự tiến triển tác dụng gây bệnh tế bào (cytopathogenic effect-CPE). CPE được so sánh với đối chứng dương.

Trong số 187 dịch nổi IgG được thử nghiệm, 43 dịch nổi được phát hiện là trung hòa chủng H3N2 (A/Wisconsin/67/2005) dùng trong thử nghiệm này. Trong số này, 14 dịch nổi được dùng để thiết kế các globulin miễn dịch IgG của người như được mô tả trong ví dụ 5.

#### Ví dụ 5

Xây dựng các phân tử globulin miễn dịch đầy đủ của người (các kháng thể đơn dòng của người) từ các dòng tế bào B và Fvs mạch đơn đã chọn

Từ các dòng kháng thể thực khuẩn chuỗi đơn đặc hiệu được chọn (scFv) ADN plasmit được thu nhận và trình tự axit amin và nucleotit được xác định theo các kỹ thuật chuẩn. Vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của scFv được tách dòng trực tiếp bằng cách cắt giới hạn để biểu hiện trong các vector biểu hiện IgG pIg-C911-HCgamma1 (xem SEQ ID No: 189), pIG-C909-Ckapa (xem SEQ ID NO: 190), hoặc pIg-C910-Clamda (xem SEQ ID No: 191). Vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của các dòng tế bào B được khuếch đại PCR và được tách dòng trực tiếp bằng cách phân cắt giới hạn để biểu hiện trong các vector biểu hiện IgG pIg-C911-HCgamma1 (xem SEQ ID No: 190), pIG-C909-Ckapa (xem SEQ ID NO: 191), hoặc pIg-C910-Clamda (xem SEQ ID No: 192). Mức độ tương đồng gen VH và VL (xem tài liệu Tomlinson IM et al. V-BASE Sequence Directory. Cambridge United Kingdom: MRC Centre for Protein Engineering (1997)) của các scFv được xác định (xem bảng 9).

Các trình tự nucleotit của tất cả các cấu trúc được kiểm tra theo các kỹ thuật chuẩn đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các cấu trúc biểu hiện thu được mã hóa các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của IgG1 của người được biểu hiện kết hợp tạm thời trong các tế bào 293T và dịch nổi chứa các kháng thể IgG1 của người được thu nhận và được tổng hợp bằng các quy trình tinh chế chuẩn. Các kháng thể IgG1 của người được chuẩn độ trong khoảng nồng độ nằm trong khoảng từ 10 đến 0,003 $\mu$ g/ml đối với kháng nguyên của H3, H7 hoặc B (dữ liệu không được thể hiện). Kháng thể không có liên quan được đưa vào làm kháng thể đối chứng.

Trình tự axit amin của các CDR của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của các phân tử globulin miễn dịch đã chọn được nêu trong bảng 9. Trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được nêu dưới đây. Các globulin miễn dịch này bao gồm vùng hằng định của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của CR6261 như nêu dưới đây.

#### Ví dụ 6

Trung hòa *in vitro* virus cúm bằng các IgG liên kết với H3N2 (thử nghiệm trung hòa virus)

Để xác định liệu IgG đã chọn có khả năng ngăn chặn sự nhiễm virus cúm A (H3N2), thử nghiệm trung hòa virus *in vitro* (VNA) được tiến hành. VNA được tiến hành trên tế bào MDCK (ATCC CCL-34). Các tế bào MDCK được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy tế bào MDCK (môi trường MEM được bổ sung chất kháng sinh, 20mM Hepes và 0,15% (trọng lượng/thể tích) natri bicacbonat (môi trường MEM đầy đủ) có bổ sung 10% (thể tích/thể tích) huyết thanh bào thai bò). Chủng H3N2 (A/Wisconsin/67/2005) dùng trong thử nghiệm này được pha loãng đến hiệu giá  $5,7 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/ml (liều gây nhiễm 50% dịch nuôi cấy mô cho mỗi ml), trong đó hiệu giá được tính toán theo phương pháp của Spearman và Karber. Các chế phẩm IgG (200 $\mu$ g/ml) được pha loãng hai lần liên tục (1:2 -

1:512) trong môi trường MEM đầy đủ trong bốn lỗ. 25 $\mu$ l dịch pha loãng IgG tương ứng được trộn với 25 $\mu$ l huyền phù virut (100 TCID<sub>50</sub>/25 $\mu$ l) và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C. Sau đó chuyển huyền phù này vào bốn lỗ của đĩa có 96 lỗ chứa chủng nuôi cấy MDCK hợp dòng trong 50 $\mu$ l môi trường MEM đầy đủ. Trước khi sử dụng, các tế bào MDCK được cấy ở mức  $3 \times 10^4$  tế bào cho mỗi lỗ trong môi trường nuôi cấy tế bào MDCK, nuôi cấy cho đến khi tế bào đạt tới sự hợp dòng, rửa bằng 300-350 $\mu$ l PBS, độ pH = 7,4 và cuối cùng 50 $\mu$ l môi trường MEM đầy đủ được bổ sung vào mỗi lỗ. Các tế bào đã cấy được nuôi cấy trong 3-4 ngày ở nhiệt độ 37°C và được quan sát hằng ngày về sự tiến triển tác dụng gây bệnh tế bào (cytopathogenic effect-CPE). CPE được so sánh với đối chứng dương.

Các kháng thể kháng HA của typ phụ H3 và/hoặc kháng HA của typ phụ H7 của người nêu trong ví dụ 5 được thử nghiệm VNA mô tả trên đây. Trong số các kháng thể này, tất cả các kháng thể, trừ CR8040, CR8052 và CR8069, có tác dụng trung hòa chủng A/Wisconsin/67/2005 H3N2. Nồng độ (tính theo  $\mu$ g/ml) mà tại đó các kháng thể này có tác dụng bảo vệ dịch nuôi cấy MDCK chống lại tác dụng CPE được nêu trong bảng 11.

Ví dụ 7

Khả năng phản ứng liên kết chéo của các IgG kháng H3N2

Các kháng thể IgG trung hòa H3N2 mô tả trên đây được đánh giá tính đặc hiệu liên kết trong thử nghiệm ELISA, tức là liên kết với các kháng nguyên HA khác nhau. Vì mục đích này, baculovirut biểu hiện HA của H1 tái tổ hợp (A/New Caledonia/20/1999), H3 (A/Wisconsin/67/2005, A/New York/55/2004, A/Wyoming/3/2003) và H7 (A/Netherlands/219/2003) (Protein Sciences, CT, USA) được phủ trên các đĩa Maxisorp™ ELISA. Sau khi phủ, các đĩa này được rửa ba lần bằng PBS chứa 0,1% thể tích/thể tích Tween-20 và được phong bế trong PBS chứa 3% BSA hoặc 2% ELK trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Các đĩa này được làm trống, rửa ba lần bằng PBS/0,1% Tween-20 và kháng thể IgG được bổ sung vào các lỗ. Ủ trong 1

giờ, rửa các đĩa này bằng PBS/0,1% Tween-20 và kháng thể liên kết được phát hiện (nhờ đo OD 492nm) bằng cách sử dụng kháng thể kháng IgG của người được liên hợp với peroxidaza. IgG CR4098 không liên quan được dùng làm mẫu đối chứng.

Từ các kháng thể có tác dụng trung hòa H3N2 đã chọn, CR8001 có khả năng liên kết chéo với typ phụ khác loài với tất cả các HA tái tổ hợp đã thử nghiệm, CR8020, CR8021, CR8041, CR8043 và CR8057 có khả năng liên kết chéo với typ phụ khác loài với cả 3 HA của H3 thử nghiệm cũng như là HA của H7. CR8003, CR8015, CR8016, CR8017, CR8018, CR8038, CR8039, CR8040, CR8049, CR8050, CR8052 và CR8069 có khả năng liên kết chéo với cả 3 HA của H3 thử nghiệm. Một kháng thể là CR8019 có khả năng liên kết chỉ với 2 trong số các HA của H3. Xem bảng 12.

Ngoài ra, các kháng thể trung hòa H3N2 đã chọn được dùng để kiểm tra khả năng liên kết với typ phụ khác loài bằng phương pháp phân tích FACS. Đối với mục đích này, các HA của typ phụ H1 của virus cúm A tái tổ hợp có chiều dài đủ (A/New Caledonia/20/1999), H3 (A/Wisconsin/67/2005) và H7 (A/Netherlands/219/2003) được biểu hiện trên bề mặt của tế bào PER.C6. Ủ các tế bào này với kháng thể IgG trong 1 giờ, sau đó rửa ba lần bằng PBS+0,1%BSA. Các kháng thể đã liên kết được phát hiện nhờ kháng thể kháng người được liên hợp PE. Tế bào PER.C6 không bị chuyển nhiễm được dùng làm mẫu đối chứng.

Từ các kháng thể có tác dụng trung hòa H3N2, CR8001 có hoạt tính liên kết chéo với HA của các typ phụ H1, H3 và H7 của virus cúm A nhưng không có hoạt tính này ở các tế bào PER.C6 kiểu đại. Ngoài ra, CR8020 và CR8041 có khả năng liên kết mạnh với HA của cả H3 và H7. CR8043 và CR8057 có khả năng liên kết mạnh với HA của H3 và liên kết yếu với HA của H7. CR8055 có mức nhuộm nền thấp trên tế bào PER.C6. 13 kháng thể còn lại chỉ liên kết với các tế bào được chuyển nhiễm H3, xem bảng 12.

Ví dụ 8

### Hoạt tính trung hòa chéo của IgG kháng H3N2

Để xác định xem các IgG đã chọn có khả năng phong bế nhiều chủng virus cúm A hay không, các thử nghiệm trung hòa virus *in vitro* khác (virus neutralization assay-VNA) được tiến hành. VNA được thực hiện trên các tế bào MDCK (ATCC CCL-34). Các tế bào MDCK được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy tế bào MDCK (môi trường MEM được bổ sung chất kháng sinh, 20mM Hepes và 0,15% (trọng lượng/thể tích) natri bicacbonat (môi trường MEM đầy đủ) có bổ sung 10% (thể tích/thể tích) huyết thanh bào thai bò). Các chủng H1N1 (A/New Caledonia/20/1999 A/Brisbane/59/2007 và A/Solomon Islands/IVR-145), H3N2 (A/Hong Kong/1/68, A/Johannesburg/33/94, A/Panama/2000/1999, A/Hiroshima/52/2005 và A/Wisconsin/67/2005), H7N3 (A/Mallard/Netherlands/12/2000) và H10 (A/Chick/Germany/N/49) dùng trong thử nghiệm này đều được pha loãng đến hiệu giá  $5,7 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/ml (liều gây nhiễm 50% dịch nuôi cấy mô cho mỗi ml), trong đó hiệu giá được tính toán theo phương pháp của Spearman và Karber. Các chế phẩm IgG (80µg/ml) được pha loãng hai lần liên tục (1:2 - 1:512) trong môi trường MEM đầy đủ trong bốn lỗ. 25µl dịch pha loãng IgG tương ứng được trộn với 25µl huyền phù virus (100 TCID<sub>50</sub>/25 µl) và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C. Sau đó, chuyển huyền phù này vào 4 lỗ trong đĩa có 96 lỗ chứa các chủng nuôi cấy MDCK hợp dòng trong 50µl môi trường MEM đầy đủ. Trước khi dùng, các tế bào MDCK được cấy ở mức  $3 \times 10^4$  tế bào mỗi lỗ trong môi trường nuôi cấy tế bào MDCK, nuôi cấy cho đến khi tế bào này đạt được sự hợp dòng, rửa bằng 300-350 µl PBS, pH 7,4 và cuối cùng 50µl môi trường MEM đầy đủ được bổ sung vào mỗi lỗ. Các tế bào đã cấy được nuôi cấy trong 3-4 ngày ở nhiệt độ 37°C và được quan sát hằng ngày sự tiến triển tác dụng gây bệnh tế bào (CPE). CPE được so sánh với đối chứng dương.

Trong số các kháng thể trung hòa H3N2, CR8020 và CR8041 có hoạt tính trung hòa chéo typ phụ khác loài với tất cả virus cúm A thuộc typ phụ

H3, H7 và H10 thử nghiệm nhưng không có hoạt tính trung hòa chéo ở virus H1. Ngoài ra, CR8043 có hoạt tính trung hòa chéo với tất cả các chủng virus H3 và H10 thử nghiệm. CR8039, CR8041, CR8043 và CR8057 có hoạt tính trung hòa chéo tất cả các chủng virus H3 thử nghiệm. 13 kháng thể khác có hoạt tính trung hòa chéo với hơn 1 trong số các chủng virus H3 thử nghiệm. Xem bảng 13.

#### Ví dụ 9

Kháng thể kháng H3N2 liên kết với cấu trúc trước dung hợp của HA

Để xác định xem các IgG đã chọn có khả năng liên kết với cấu trúc trước hoặc sau dung hợp của phân tử HA hay không, các thử nghiệm thay đổi độ pH *in vitro* được tiến hành.

Nhằm mục đích này, HA của typ phụ H3 của virus cúm A tái tổ hợp có chiều dài đủ (A/Wisconsin/67/2005) được biểu hiện trên bề mặt của tế bào PER.C6. Để thử nghiệm tính phản ứng đặc hiệu ở các cấu trúc HA khác nhau,  $3 \times 10^5$  tế bào được xử lý bằng 10  $\mu$ g/ml trypsin-EDTA trong DMEM trong 30 phút ở nhiệt độ phòng, rửa và ủ trong 5 phút trong PBS đã axit hóa (độ pH=4,9), rửa, sau đó ủ trong 20 phút khi có mặt 20mM DTT ở nhiệt độ trong phòng. Tách các tế bào ở mỗi bước và các tế bào bám dính không được xử lý được tái tạo huyền phù trong 0,05% EDTA. Các phần đoạn tế bào của mỗi lần xử lý được ủ với IgG kháng H3N2 CR8001, CR8020, CR8041, CR8043 và CR8057 trong 30 phút. Sau đó, các tế bào này được ủ trong 30 phút với kháng IgG được liên hợp với phycoerythrin (Southern Biotech). Các tế bào đã nhuộm được phân tích bằng thiết bị FACS Calibur có chương trình phần mềm CELLQuest Pro (Becton Dickinson). Liên kết FACS của IgG1 với rHA của H3 được biểu hiện trên bề mặt được đánh giá sau khi xử lý tiếp bằng trypsin (cột kẻ sọc), môi trường đệm có độ pH=4,9 (cột màu trắng) và DTT (cột kẻ ô vuông) và được thể hiện dưới dạng tỷ lệ phần trăm liên kết với rHA không được xử lý (cột màu đen), xem Fig.2. Các kháng thể CR8001, CR8020, CR8041 và CR8043 đều có sự giảm liên kết đáng kể sau

khi thay đổi độ pH chứng tỏ tính đặc hiệu với epitop chỉ có trước khi thay đổi cấu trúc phân tử HA được kích thích bởi độ pH thấp. Kháng thể CR8057 có sự giảm liên kết chỉ sau khi xử lý bằng DTT chứng tỏ tính đặc hiệu epitop không phụ thuộc cấu trúc chỉ có khi có mặt HA1.

#### Ví dụ 10

Kháng thể CR8041 kháng H3N2 ngăn ngừa sự phân cắt HA0

Để xác định xem các IgG đã chọn có khả năng bảo vệ phân tử HA khỏi sự phân cắt của proteaza hay không, tiến hành thử nghiệm tính nhạy cảm proteaza *in vitro*.

Đối với mục đích này, 7,5 $\mu$ g HA tan tái tổ hợp của typ phụ H3 (Protein Sciences, CT, Mỹ) (A/Wisconsin/67/2005) của virus cúm A được xử lý ở các độ pH khác nhau (4,9, 5,3 và 8,0) trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C. Sau khi ủ, các hỗn hợp phản ứng này được trung hòa. Phân cắt các mẫu qua đêm bằng 0,5 $\mu$ g trypsin khi có mặt và không có mặt 7,5 $\mu$ g các đoạn Fab của CR8041 hoặc CR8057. Dập tắt phản ứng bằng cách bổ sung dung dịch tải SDS. 3 $\mu$ l chất khử Nupage (Invitrogen) được bổ sung vào mỗi mẫu. Các băng được chạy trên 4-12% gel BisTris trong dung dịch đệm MOPS 1x. Các băng protein này được quan sát bằng cách nhuộm thuốc nhuộm xanh dạng keo (xem Fig.3). Khi không có mặt các đoạn Fab, phân tử HA H3 dễ dàng được chuyển hóa thành dạng sau dung hợp nhạy cảm với proteaza của nó ở độ pH bằng 4,9 hoặc 5,3, nhưng không được chuyển hóa thành dạng này ở độ pH 8,0. Khi có mặt đoạn Fab CR8057, sự thoái hóa của HA H3 và do đó sự thay đổi cấu trúc ở độ pH 4,9 không bị ức chế. Ngược lại, sự có mặt của Fab CR8041 không chỉ ngăn ngừa được sự thay đổi cấu trúc HA H3 và sự thoái biến ở pH thấp, mà còn ngăn ngừa được sự phân cắt không phụ thuộc độ pH của HA0 thành HA1 và HA2. Các kết quả này chứng tỏ epitop của CR8041 nằm trên hoặc gần với vị trí phân cắt. Các thử nghiệm cạnh tranh (kết quả không được thể hiện) với nhóm kháng thể kháng H3N2 cho thấy

epitop che phủ và cơ chế hoạt động tương tự của các kháng thể CR8001, CR8020 và CR8043.

#### Ví dụ 11

Cơ chế hoạt động của các phân tử liên kết theo sáng chế

Glycoprotein HA là một trime trong đó mỗi monome gồm có hai glycopolypeptit được liên kết với nhau bằng liên kết disulfua (được gọi là HA1 và HA2) được tạo ra trong quá trình gây nhiễm nhờ sự phân cắt bằng cách phân giải protein phân tử tiền chất (HA0). Sự phân cắt là cần thiết để gây nhiễm virus vì nó là cần thiết để gây miễn cảm HA để dung hợp với màng để thay đổi cấu trúc.

Sự hoạt hóa phân tử đã miễn cảm sơ bộ này xảy ra ở độ pH thấp trong các nội thể, ở độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 6, và cần có các thay đổi lớn trong cấu trúc HA. Cấu trúc ba chiều của các cấu trúc HA tiền dung hợp không bị phân cắt (I), tiền dung hợp đã phân cắt (II) và sau dung hợp (III) được thể hiện bằng sơ đồ trên Fig.4.

Các thay đổi cấu trúc *in vitro* của phân tử HA có thể được bắt chước nhờ các tế bào động vật có vú biểu hiện HA trên bề mặt. Đầu tiên, Sự phân cắt nhờ phân giải protein có thể được gây ra bằng cách bổ sung trypsin vào tế bào. Thứ hai, sự thay đổi cấu trúc từ trước đến sau khi dung hợp có thể đạt được bằng cách làm giảm độ pH. Ngoài ra, phần HA1 của phân tử này có thể được loại bỏ bằng cách bổ sung chất khử như DTT. Theo cách này và bằng cách bổ sung các kháng thể ở các giai đoạn cụ thể, có thể kiểm tra được ở giai đoạn nào kháng thể can thiệp vào quá trình gây nhiễm. Về vấn đề này, tế bào PER.C6® được chuyển nhiễm cấu trúc biểu hiện HA H3 chứa HA có nguồn gốc từ chủng A/Wisconsin/67/2005 và được xử lý qua các bước khác nhau như được mô tả trong ví dụ 10.

Đối với thử nghiệm này, đầu tiên các tế bào được ủ với các mAb kháng H3 trước khi phân cắt bằng trypsin và sau đó xử lý như được mô tả trên đây (xem Fig.5).

Sự liên kết của các mAb kháng H3 được phát hiện bằng kháng thể kháng người được liên hợp với PE theo quy trình chuẩn. Các tín hiệu huỳnh quang được đo bằng phân tích FACS. ‘Chỉ các tế bào’ có nghĩa là tín hiệu thu được sau khi mAb liên kết với các tế bào không được xử lý và được đặt là 100%. Như có thể thấy trong Fig.5, mAb vẫn được liên kết với HA sau các lần xử lý khác nhau. Vì trong ví dụ 10 trên đây đã thấy rằng các mAb H3 CR8020, CR8041 và CR8043 chỉ liên kết với trạng thái tiền dung hợp (tức là, trước khi thay đổi cấu trúc do độ pH thấp hơn), kết luận được rằng sự liên kết của kháng thể thực tế có tác dụng ức chế sự phân cắt bằng trypsin (cũng xem ví dụ 10) ít nhất là *in vitro*, và do đó các bước tiếp theo cũng dẫn đến sự thay đổi cấu trúc và sự dung hợp. Kháng thể CR8057 liên kết với phần HA1 của phân tử HA gần vị trí liên kết với thụ thể có khả năng liên kết với HA sau khi thay đổi cấu hình và được cho là mất đi khi phần HA1 được loại bỏ sau khi phá vỡ các liên kết disulfua giữa các vùng HA1 và HA2 bằng cách xử lý bằng DTT.

Tác dụng ức chế sự phân cắt bằng trypsin được khẳng định sau đó trong một thử nghiệm *in vitro* khác. Đầu tiên, thử nghiệm trong một khoảng thời gian được tiến hành để xác định thời gian HA H3 cần được ủ với trypsin để thu được mức phân cắt thích hợp HA0 thành HA1 và HA2. Về vấn đề này, HA H3 hòa tan tái tổ hợp (A/Wisconsin/67/2005; Protein Sciences, CT, USA) được ủ trong dung dịch đệm 4mM Tris.HCl ở độ pH = 8,0 chứa 6,7µg/ml Trypsin và 1% N-dodexyl-β-demaltosit. Sự phân cắt bằng trypsin được dừng ở một vài thời điểm bằng cách bổ sung 1% BSA. Các mẫu được chạy trên gel SDS-page (khử) và được thẩm tách theo các phương pháp chuẩn. Các băng HA0, HA1 và HA2 được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể đa dòng kháng H3HA của thỏ (protein Sciences, CT, Mỹ). Fig.6 cho thấy rằng việc ủ trong 2 giờ là đủ để phân cắt gần như hoàn toàn được chứng minh bằng sự có mặt của các băng HA1 và HA2 trên gel khử. Tiếp theo, HA H3 tái tổ hợp hòa tan được ủ với CR8020, CR8041, CR8043 hoặc

CR8057 và sau đó được phân cắt bằng trypsin ở độ pH = 8,0. Sự phân cắt bằng trypsin lại được dùng ở một vài thời điểm bằng cách bổ sung 1% BSA. Các mẫu được chạy trên gel SDS-page (khử) và được thẩm tách. Các vạch HA0, HA1 và HA2 được phát hiện nhờ kháng thể đa dòng kháng H3. Các kết quả này thể hiện rằng cả ba mAb CR8020, CR8041 và CR8043 đều ngăn ngừa được sự phân cắt bằng trypsin *in vitro* vì việc ủ HA H3 đã liên kết với kháng thể cùng với trypsin dẫn đến tác dụng bảo vệ dạng HA0 của HA trên gel này (Fig.7). Ngược lại, việc ủ HA H3 với mAb đối chứng (CR8057) ở các điều kiện như nhau dẫn đến sự biến mất của băng HA0. Thử nghiệm này khẳng định dữ liệu được bàn luận trong ví dụ 10 đối với CR8041 và mở rộng quan sát này với các kháng thể CR8020 và CR8043. Do đó, phân tử liên kết theo sáng chế ít nhất có tác dụng ngăn ngừa sự phân cắt bằng trypsin của phân tử HA0, ít nhất là *in vitro*. Tuy nhiên, lưu ý rằng không ngoại trừ rằng các tác động ức chế khác cũng được gây ra bởi các mAb CR8020, CR8041 và CR8043 ở các giai đoạn sau trong quá trình gây nhiễm và dẫn đến sự can thiệp vào sự thay đổi cấu trúc do pH gây ra và/hoặc quá trình dung hợp.

Để thử nghiệm xem đây có phải là trường hợp thử nghiệm được bàn luận trên đây được lặp lại hay không, kháng thể CR8043, hoặc kháng thể CR8057 làm đối chứng, được bổ sung vào tế bào biểu hiện HA H3 chỉ sau khi phân cắt bằng trypsin. Sau khi ủ, các tế bào được ủ tiếp trong dung dịch đệm có độ pH thấp như được mô tả trong ví dụ 10 và được xử lý bằng DTT như được mô tả. Nếu cơ chế hoạt động này bị giới hạn ở việc ức chế sự phân cắt bằng trypsin, hi vọng rằng mAb CR8043 bị mất khả năng liên kết sau khi xử lý độ pH vì các tác giả sáng chế đã chứng minh được trong ví dụ 10 rằng các kháng thể không liên kết với cấu trúc sau dung hợp của HA. Ngược lại, như có thể thấy từ Fig.8, sự liên kết với mAb CR8043 vẫn được phát hiện sau khi tiếp xúc với độ pH thấp và xử lý bằng DTT sau đó chứng tỏ rằng sự thay đổi cấu trúc do pH gây ra cũng bị ức chế bởi CR8043, ít nhất là *in vitro*. CR8057 được cho là liên kết với vùng HA1 của HA đã tác dụng như kỳ

vọng và không còn được phát hiện khi phần HA1 bị mất đi sau khi xử lý bằng DTT.

Để thử nghiệm xem liệu các kháng thể CR8020 và CR8041 cũng có thể ngăn ngừa sự thay đổi cấu trúc của HA được gây ra bởi độ pH hay không, các thử nghiệm bàn luận trên đây được lặp lại. Hiện nay các kháng thể CR8020, CR8041 và CR8043, hoặc kháng thể CR8057 được dùng làm mẫu đối chứng, được bổ sung vào tế bào biểu hiện HA thuộc typ phụ H3 A/Hong Kong/1/1968, A/Hong Kong/24/1985 hoặc A/Wisconsin/67/2005 sau tất cả các lần xử lý mô tả trên đây, trước khi ủ ở pH thấp hoặc trước khi phân cắt bằng trypsin.

Như đã thể hiện ở trên đối với HA H3 A/Wisconsin/67/2005, các kháng thể CR8020, CR8041 và CR8043 nhận biết epitop chỉ có mặt trước khi xử lý ở độ pH thấp. Epitop này được bảo toàn trong ba HA dùng trong thử nghiệm này như có thể thấy trên Fig.9c.

Nếu cơ chế tác dụng bị giới hạn ở việc ức chế sự phân cắt bằng trypsin, hi vọng rằng các mAb CR8020, CR8041 và CR8043 mất khả năng liên kết với HA đã phân cắt sau khi xử lý bằng độ pH vì các tác giả sáng chế đã chứng minh được trong ví dụ 10 rằng các kháng thể này không liên kết với cấu trúc sau dung hợp của HA. Ngược lại, như có thể thấy từ Fig.9b, sự liên kết của mAb vẫn được phát hiện sau khi cho tiếp xúc với độ pH thấp và xử lý bằng DTT sau đó trên cả ba HA H3 khác nhau chứng tỏ rằng sự thay đổi cấu trúc do pH gây ra cũng bị ức chế bởi CR8020, CR8041 và CR8043, ít nhất là *in vitro*. CR8057 đã được cho thấy là liên kết với vùng HA1 biến đổi cao của HA, không có tác dụng liên kết với các HA của virus A/Hong Kong/1/1968 và A/Hong Kong/24/1985.

Ví dụ 12

Các thể đột biến trốn thoát được tạo ra *in vitro* chứng tỏ rằng vị trí của epitop trùng với trình tự được bảo toàn trong HA H3

Để thử nghiệm xem vùng nào trong HA CR8020, CR8041 và CR8043 liên kết, đã thử tạo ra các thể đột biến trốn thoát trong dịch nuôi cấy *in vitro*. Các virus A/Hong Kong/1/1968 được cấy chuyển vào dịch nuôi cấy tế bào MDCK khi có mặt các lượng giới hạn kháng thể đơn dòng. Đầu tiên, xác định nồng độ nào của kháng thể dẫn đến giảm mức nhiễm virus 99,9% sau khi cấy tế bào MDCK bằng 100 đơn vị TCID<sub>50</sub> được trộn với kháng thể đơn dòng với lượng khác nhau và được ủ trong 3 ngày. Nồng độ kháng thể này được bổ sung vào chủng nuôi cấy trong các đĩa cấy chuyển liên tiếp và sau mỗi lần cấy chuyển, virus được xác định hiệu giá vết tan khi có mặt và khi không có mặt kháng thể với lượng khác nhau để xác định xem virus vẫn nhạy cảm với sự trung hòa do kháng thể gây ra hay không. Quy trình này được thực hiện cho mỗi kháng thể trong số các kháng thể đơn dòng CR8020, CR8041 và CR8043. Từ mỗi virus trốn thoát khỏi dịch nuôi cấy có thể được phân lập bằng thử nghiệm vết tan và, trong số hai thể phân lập của mỗi chủng nuôi cấy, ARN virus được chiết và dùng để xác định trình tự HA. Axit amin bị đột biến quan sát được là như sau:

CR8020: D19N và Q27L trong cả hai vết tan phân tích;

CR8041: G33E trong hai vết tan;

CR8043: R25M trong một vết tan và Q34R trong vết tan còn lại.

Cả ba kháng thể đơn dòng đều có sự đột biến trốn thoát ở vùng tương tự trong phần HA2 của vùng thân HA nằm kề với peptit dung hợp. So sánh các trình tự axit amin của các virus H3N2 có trong cơ sở dữ liệu cúm NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/Database/select.cgi>) trong vùng này cho thấy sự bảo toàn mạnh của trình tự này. Bảng 14 mô tả sự biến đổi trình tự ở vùng HA2 giữa axit amin W14 và K39 với các đột biến trốn thoát quan sát được được tô xám. N= số chủng có trình tự đặc hiệu. Ngoài ra, năm phân lập (số năm) được thể hiện cũng như là các chủng thử nghiệm dương tính trong các thử nghiệm trung hòa với kháng thể H3 (Pa= A/Panama/2000/1999; Wis= A/Wisconsin/67/2005; Hs=

A/Hiroshima/52/2005; HK= A/HongKong/1/1968). Trong số 1363 virus H3 có mặt trong cơ sở dữ liệu chứa trình tự HA2 đã nêu, phần lớn (81%) có các trình tự có mặt trong các chủng virus được thể hiện là được trung hòa. Trong số các trình tự còn lại hầu hết có axit amin được coi là có các thay đổi bảo toàn. Đối với các đột biến khác, thử nghiệm trung hòa chức năng sẽ là cần thiết để chứng minh sự thay đổi này có làm ảnh hưởng đến chức năng của kháng thể hay không. Quan trọng là, ba sự thay đổi axit amin xuất hiện trong thử nghiệm virus trốn thoát (R25, G33 và Q34) không xảy ra ở các trình tự virus cúm tự nhiên và hai đột biến khác chỉ xuất hiện ở dạng hỗn hợp (D19 và Q27), dạng hỗn hợp cũng không có mặt trong các trình tự tự nhiên. Điều này có nghĩa là các đột biến có tác dụng tiêu cực lên sự phù hợp virus. Nói chung, có thể kết luận rằng các kháng thể tương tác với epitop trên HA2 được bảo toàn cao giữa các virus thuộc typ phụ H3 khẳng định khả năng trung hòa phổ rộng của các kháng thể đơn dòng.

#### Ví dụ 13

Điều chế các kháng thể đơn dòng cho các thử nghiệm *in vivo*

Để xác định đặc điểm và sau đó đánh giá các IgG làm kháng thể điều trị tiềm năng *in vivo*, các IgG được sản xuất và tinh chế với lượng thích hợp. Các IgG được tổng hợp trong các tế bào PER.C6<sup>®</sup> trong túi Wave có dung tích 25l và dịch nuôi cấy được thu hoạch. Từ dịch nuôi cấy đã làm trong thu được, IgG được tinh chế bằng phương pháp sắc ký ái lực protein A và bước trao đổi dung dịch đệm. Lượng monome của dung dịch đệm đã tinh chế trao đổi IgG là khoảng 99% cả trước và sau khi lọc qua màng vô trùng có kích thước lỗ màng 0,2µm. Các thử nghiệm trung hòa virus *in vitro* khác (VNA) được tiến hành với các chế phẩm kháng thể khác nhau thu được, như được mô tả trên đây. Các kết quả này được thể hiện trong bảng 15.

#### Ví dụ 14

Hoạt tính phòng bệnh của các kháng thể đơn dòng IgG của người chống lại kích thích H3N2 gây chết *in vivo*

Các mAb CR8020, CR8041 và CR8043 được thử nghiệm hiệu quả phòng bệnh trên mô hình chuột thử nghiệm gây chết bằng virus cúm A/HK/1/68-MA20 (H3N2) ở chuột cái 129X1/SvJ (Jackson Labs) (MA=chuột được thích nghi). Virus A/HK/1/68-MA20 thu được từ Prof. E.G. Brown, đại học Ottawa, Ottawa, Ontario, Canada; Brown, E. G. và các đồng tác giả (2001). Virus này được cấy chuyển một lần trong trứng gà có phôi trước khi dùng trong các thử nghiệm trên chuột. Tất cả chuột được làm thích nghi với môi trường và được duy trì trong một khoảng thời gian ít nhất 4 ngày trước khi bắt đầu thử nghiệm.

Các mAb được sử dụng ở liều 30, 10, 3 và 1mg/kg dùng qua đường tĩnh mạch ở tĩnh mạch đuôi (*vena coccygeus*) vào ngày 1 trước khi thử nghiệm, giả sử trọng lượng trung bình là 18g mỗi con chuột và thể tích liều cố định là 0,2ml. Sau đó, chuột (n=8 con mỗi nhóm) được thử nghiệm vào ngày 0 với liều 25 LD50 virus A/HK/1/68-MA20 (H3N2) bằng cách sử dụng trong mũi. Liều thực tế của virus đã dùng được ước tính bằng cách tính hiệu giá một vài mẫu sao chép từ dịch cấy còn lại sau khi tiêm cho chuột. Hiệu giá virus (TCID50/ml) của dịch nuôi cấy được xác định trên tế bào MDCK. Các kết quả chỉ ra rằng không có sự bất hoạt virus nào xảy ra một cách không chủ ý trong quá trình điều chế hoặc sử dụng dịch nuôi cấy. Các dấu hiệu lâm sàng và thể trọng được xác định hằng ngày từ ngày -1 trước khi thử nghiệm cho đến khi kết thúc thử nghiệm vào ngày 21. Các dấu hiệu lâm sàng được ghi lại bằng hệ thống ghi điểm (0=không có tín hiệu lâm sàng; 1=lông bờm xồm; 2=lông bờm xồm, phản ứng kém, thụ động trong thử nghiệm; 3=lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, thụ động trong thử nghiệm; 4=lông bờm xồm, cuộn tròn, thở nặng nhọc, không cuộn lại trên bụng khi nằm ngửa). Tại điểm số 4, chuột được gây chết nhẹ nhàng. Để phân tích lượng mAb trong huyết tương vào ngày 0 và xác định sự có mặt của các kháng thể ức chế sự ngưng kết hồng cầu (hemagglutination inhibiting-HI)

vào ngày 21, các mẫu máu được lấy từ tất cả các con chuột vào ngày D0, ngay trước khi thử nghiệm, và vào ngày D21 sau khi gây nhiễm.

Các mAb được thử nghiệm trong hai thử nghiệm riêng. Trong mỗi thử nghiệm, nhóm kháng thể đối chứng âm (CR3014) được dùng ở liều 30mg/kg. MAb CR8020 được thử nghiệm trong thử nghiệm thứ nhất, các mAb CR8041 và CR8043 được thử nghiệm trong thử nghiệm thứ hai. Tất cả các con chuột đều nhanh nhẹn và dường như đều khỏe mạnh không biểu hiện các dấu hiệu bệnh trong suốt giai đoạn làm quen với môi trường. Fig.10 thể hiện tỷ lệ sống sót của chuột, sau khi sử dụng mAb. Mỗi quan hệ liều-đáp ứng rõ ràng được quan sát, trong đó tất cả các nhóm được dùng CR8020, CR8041 hoặc CR8043 ở liều 30, 10 hoặc 3mg/kg thể hiện 100% sống sót, trong khi đó ở liều 1mg/kg CR8020 25% chuột sống sót và không chuột nào sống sót ở các nhóm liều 1mg/kg CR8041 và CR8043. Hai nhóm mAb đối chứng thể hiện 0% sống sót. Trong thử nghiệm đầu tiên, sử dụng mAb CR8020 dẫn đến sự thay đổi có ý nghĩa thống kê về thời gian sống sót ở bốn nồng độ thử nghiệm, so với nhóm đối chứng ( $p < 0,005$ ; kiểm định Log Rank). Trong thử nghiệm thứ hai, việc sử dụng các mAb CR8041 và CR8043 cũng dẫn đến sự thay đổi có ý nghĩa thống kê về thời gian sống sót trong cả bốn nồng độ thử nghiệm, so với nhóm đối chứng ( $p < 0,001$  đối với cả hai mAb; kiểm định Log Rank).

Fig.11 thể hiện sự thay đổi thể trọng trung bình của chuột trong thời gian thử nghiệm 21 ngày sau khi sử dụng mAb. Giống với tỷ lệ sống sót, có một mối quan hệ ngược rõ ràng giữa sự giảm trọng lượng và liều kháng thể sử dụng. Nếu nồng độ kháng thể tăng lên, mức độ giảm trọng lượng giảm đi: chuột trong các nhóm được dùng CR8020, CR8041 hoặc CR8043 ở liều 30, 10 hoặc 3mg/kg có mức tăng thể trọng trung bình là xấp xỉ 10-15% từ ngày 0 đến ngày 21, phù hợp với mức sự tăng trọng lượng có liên quan đến tuổi, trong khi đó ở nhóm 1mg/kg và ở các nhóm mAb đối chứng, thể trọng trung bình của chuột giảm đi ở giai đoạn nghiên cứu. Sự thay đổi thể trọng được

phân tích chi tiết hơn bằng cách phân tích diện tích dưới đường cong (Area under the Curve-AUC). Đối với mục đích phân tích này, thể trọng được quan sát lần cuối được chuyển sang ngày 21 nếu chuột bị chết/được gây chết trong quá trình thử nghiệm. Nói tóm lại, thể trọng mỗi con chuột vào ngày 0 được dùng làm giá trị cơ bản và sự thay đổi trọng lượng từ ngày 0 đến ngày 21 được xác định so với mức cơ bản. AUC được xác định là tổng diện tích bên trên và diện tích bên dưới mức cơ bản này. Các giá trị AUC trung bình của nhóm liều mAb được so sánh với các nhóm đối chứng tương ứng nhờ phân tích phương sai có điều chỉnh Dunnet để so sánh nhiều nhóm (bảng 16). Phân tích này chỉ ra rằng AUC trung bình của các nhóm liều 3, 10 và 30mg/kg từ CR8020, CR8041 và CR8043 khác AUC của các nhóm đối chứng tương ứng có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,001$ ) (bảng 16). Đối với cả nhóm sử dụng liều 1mg/kg của CR8041 cũng như CR8043, nhận thấy có sự chênh lệch có ý nghĩa thống kê khi so sánh với nhóm đối chứng ( $p=0,004$  và  $p < 0,001$  tương ứng). Tuy nhiên, do hai con chuột sống sót ở nhóm sử dụng liều CR8020 1mg/kg, nên quan sát thấy có sự tăng mức thay đổi thể trọng và do đó không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê có thể được chứng minh khi so sánh với nhóm đối chứng.

Một phân tích khác được tiến hành để thử nghiệm đáp ứng liều của sự giảm mức độ giảm trọng lượng bằng cách so sánh các giá trị AUC trung bình cho mỗi nồng độ kháng thể của mỗi kháng thể bằng phân tích phương sai có điều chỉnh Tukey để so sánh nhiều nhóm (bảng 16). Đối với cả mAb CR8020 và CR8041, mức giảm thể trọng ở các nhóm sử dụng liều 1mg/kg cao hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ) so với nhóm sử dụng liều 3mg/kg tương ứng, trong khi đó không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm sử dụng liều 3, 10 và 30mg/kg ( $p > 0,05$ ). Đối với mAb CR8043 mức giảm trọng lượng ở nhóm sử dụng liều 1mg/kg cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm 3mg/kg ( $p < 0,001$ ) và mức giảm trọng lượng ở nhóm sử dụng liều 3mg/kg cao hơn đáng kể so với mức giảm trọng lượng ở nhóm sử dụng

liều 10mg/kg ( $p < 0,001$ ). AUC trung bình của các nhóm sử dụng CR8043 với liều 10 và 30mg/kg không chênh lệch đáng kể ( $p = 0,997$ ).

Điểm số lâm sàng trung bình của chuột được thể hiện ở Fig.12. Chuột được dùng CR8020, CR8041 hoặc CR8043 ở liều 30 và 10mg/kg không có dấu hiệu lâm sàng bất kỳ, như được thể hiện bằng điểm số lâm sàng trung bình bằng 0 trong suốt thời gian thử nghiệm 21 ngày của hai thử nghiệm này. MAb 8020 cũng không có điểm số lâm sàng ở nhóm sử dụng liều 3mg/kg, trong khi đó ở nhóm sử dụng mAb 8041 và 8043 với liều 3mg/kg, các mức tăng điểm số lâm sàng được quan sát đến điểm số trung bình tương ứng là 1 và 3. Ở các nhóm liều 1mg/kg của cả ba mAb, điểm số lâm sàng được tăng lên đạt tới điểm số trung bình là 4 ở tất cả các nhóm. Chuột được quan sát có điểm số lâm sàng bằng 4 được gây chết vào cùng ngày. 2 con chuột sống sót ở nhóm sử dụng CR8020 với liều 1mg/kg bị ốm vào ngày 7 của thử nghiệm và có điểm số lâm sàng tối đa tương ứng là 1 và 3. Cả hai chuột này được phục hồi hoàn toàn. Trong số các nhóm sử dụng CR8041 và CR8043 ở liều 3mg/kg, profin giảm thể trọng cho thấy kiểu giảm tương tự như profin điểm số lâm sàng.

Các kết quả này chứng tỏ rằng ít nhất ba kháng thể kháng H3N2 của người được xác định và phát triển như được mô tả ở đây (CR8020, CR8041 và CR8043) là có thể có khả năng bảo vệ riêng chống lại liều gây chết của virus cúm H3N2 *in vivo*. Mối quan hệ đáp ứng liều rõ ràng giữa lượng mỗi kháng thể sử dụng và tỷ lệ sống sót được quan sát. Các kết quả này thể hiện rằng kháng thể IgG kháng H3N2 CR8041 và 8043 có thể ngăn ngừa sự biểu hiện lâm sàng của H3N2 ở chuột nếu được dùng một ngày trước khi gây nhiễm ở liều 10mg/kg hoặc cao hơn. MAb CR8020 có thể ngăn ngừa biểu hiện lâm sàng của sự nhiễm H3N2 ở chuột khi dùng một ngày trước khi nhiễm ở liều 3mg/kg hoặc cao hơn.

Ví dụ 15

Hoạt tính bảo vệ và điều trị của kháng thể đơn dòng IgG của người đối với kích thích bằng virus H3N2 gây chết *in vivo*

Thử nghiệm được thực hiện để kiểm tra tác dụng điều trị của các kháng thể đơn dòng như được bộc lộ ở đây, ví dụ CR8020, ở mẫu sau nhiễm, chống lại sự kích thích bằng virus cúm H3N2 A/HK/1/68-MA20 gây chết *in vivo*. Chuột (n=10 con mỗi nhóm) được dùng mAb CR8020 ở liều 15mg/kg qua đường tĩnh mạch ở tĩnh mạch đuôi (*vena coccygeus*) vào ngày -1 trước khi thử nghiệm (nhóm 1; đối chứng phòng ngừa dương) hoặc vào ngày 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6 sau khi thử nghiệm (nhóm 2-7), giả sử trọng lượng trung bình là 18g mỗi con chuột và thể tích liều cố định là 0,2ml. Nhóm 8 nhận một liều đối chứng âm mAb CR3014 (15mg/kg) vào ngày 1 sau khi thử nghiệm. Chuột được thử nghiệm vào ngày 0 với liều 25 LD<sub>50</sub> (2,8 log TCID<sub>50</sub>) virus A/HK/1/68-MA20 (H3N2) bằng cách cấy qua đường mũi. Lô và loại virus, và tuổi của chuột là giống như được dùng trong ví dụ 14. Các dấu hiệu lâm sàng và thể trọng được xác định hằng ngày từ ngày -1 trước khi thử nghiệm cho đến khi kết thúc thử nghiệm vào ngày 21.

Fig.13A thể hiện tỷ lệ sống sót của chuột sau khi dùng qua đường tĩnh mạch mAb CR8020 (15mg/kg ở tất cả các nhóm) hoặc mAb đối chứng (15mg/kg). Nếu 15mg/kg mAb CR8020 được dùng vào ngày -1 trước khi thử nghiệm hoặc các ngày 1 hoặc 2 sau khi thử nghiệm, tất cả các con chuột đều sống sót sau khi thử nghiệm virus, trong khi đó tỷ lệ sống sót ở nhóm mAb đối chứng là 0%. Nếu 15mg/kg mAb CR8020 được dùng vào ngày 3 hoặc 4 sau khi thử nghiệm, 50% và 10% sống sót lần lượt được quan sát. Thời gian sống sót của mỗi nhóm trong số các nhóm này khác nhau có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng (nhóm ngày 3:  $p < 0,001$  và nhóm ngày 4  $p = 0,002$ ; kiểm định Log Rank). Các nhóm được điều trị bằng 15mg/kg CR8020 vào ngày 5 hoặc 6 có tỷ lệ sống sót là 0%. Không có sự chênh lệch có ý nghĩa thống kê về thời gian sống sót ở nhóm được điều trị

vào ngày 5 hoặc 6 so với nhóm đối chứng ( $p=0,648$  và  $p=0,342$ , tương ứng; kiểm định Log Rank).

Fig.13B thể hiện sự thay đổi thể trọng trung bình so với ngày 0 của chuột trong thời gian thử nghiệm 21 ngày. Giống với tỷ lệ sống sót, có mối quan hệ rõ ràng giữa mức giảm trọng lượng và thời gian sử dụng 15mg/kg mAb CR8020: nếu việc điều trị bằng 15mg/kg mAb CR8020 được tiến hành ở thời điểm muộn hơn, mức giảm trọng lượng sẽ tăng. Sự thay đổi thể trọng được phân tích thống kê chi tiết hơn nhờ phân tích diện tích dưới đường cong (AUC) (bảng 17). Đối với phân tích diện tích dưới đường cong, thể trọng quan sát được lần cuối được chuyển sang ngày 21 nếu chuột bị chết/được gây chết trong quá trình tiến hành thử nghiệm. Nói tóm lại, trọng lượng mỗi chuột vào ngày 0 được dùng làm giá trị cơ bản và sự thay đổi trọng lượng từ ngày 0 đến ngày 21 được xác định so với mức cơ bản. AUC được xác định là tổng diện tích bên trên và diện tích bên dưới mức cơ bản.

Điểm số lâm sàng trung bình của chuột được thể hiện trên Fig.13C. Trong số chuột được điều trị bằng 15mg/kg CR8020 vào ngày -1 trước khi thử nghiệm, tất cả chuột đều sống sót và không con nào có dấu hiệu lâm sàng bất kỳ trong thời gian quan sát. Chuột được điều trị bằng 15mg/kg CR8020 vào ngày 1 sau khi thử nghiệm sống sót 100%, tuy nhiên, 4 trong số 10 con chuột có dấu hiệu lâm sàng, đạt tới điểm số lâm sàng tối đa nằm trong khoảng từ 1 đến 3. Trong số các chuột được điều trị bằng 15mg/kg CR8020 vào ngày 2 sau khi thử nghiệm, tất cả chúng đều sống sót. Tuy nhiên, 9 trong số 10 chuột có dấu hiệu lâm sàng đạt tới điểm số lâm sàng là 2 hoặc 3. Chuột được điều trị bằng 15mg/kg CR8020 vào ngày 3 sau khi thử nghiệm sống sót 50%. Trong số các con sống sót ( $n=5$ ), tất cả chúng đều có biểu hiện lâm sàng với điểm số lâm sàng tối đa là 3. Trong số tất cả các con chuột được điều trị bằng 15mg/kg CR8020 vào ngày 4 sau khi thử nghiệm, một con bị chết. Chuột sống sót có biểu hiện lâm sàng đạt tới điểm số lâm sàng tối đa là

2. Tất cả chuột sống sót trong các nhánh điều trị đều không biểu hiện các triệu chứng vào ngày 21.

Điểm số lâm sàng được phân tích nhờ phương pháp GENMOD (SAS) để thích hợp với mô hình đo lặp lại trong đó chuột được dùng làm đối tượng và dữ liệu được đánh giá trên thang đo thứ tự (bảng 18). Vì các đường cong có các kiểu khác nhau nên biến số “ngày” được nhập vào dưới dạng biến số nhóm trong mô hình này. Từ các nhóm được điều trị bằng 15mg/kg mAb CR8020 vào ngày -1 trước khi thử nghiệm và ngày 1 và 2 sau khi thử nghiệm, trong đó 100% chuột sống sót, điểm số lâm sàng trung bình chênh lệch đáng kể so với nhóm mAb đối chứng trong phần lớn thời gian thử nghiệm 21 ngày ( $p \leq 0,001$  đối với cả 3 nhóm). Từ các nhóm được điều trị bằng 15mg/kg mAb CR8020 vào ngày 3 hoặc ngày 4 sau khi thử nghiệm, trong đó tỷ lệ chuột sống sót tương ứng là 50% và 10%, điểm số lâm sàng trung bình cũng chênh lệch đáng kể so với nhóm mAb đối chứng trong thời gian thử nghiệm 21 ngày ( $p < 0,05$  đối với cả hai nhóm). Từ các nhóm được điều trị bằng 15mg/kg mAb CR8020 vào ngày 5 hoặc ngày 6 sau khi thử nghiệm, điểm số lâm sàng trung bình chênh lệch đáng kể so với nhóm mAb đối chứng chỉ vào ngày 3 ( $p \leq 0,001$ ). Mức chênh lệch này, mặc dù có ý nghĩa thống kê, nhưng không được coi là thích hợp.

Kết luận, việc điều trị bằng 15mg/kg mAb CR8020 tạo ra tác dụng bảo vệ 100% cho đến ngày 2 sau khi thử nghiệm ở mô hình chuột H3N2 gây chết. Nếu được dùng vào ngày 3 hoặc ngày 4 sau khi thử nghiệm, việc điều trị bằng 15mg/kg mAb CR8020 chỉ có tác dụng bảo vệ một phần. Nếu được dùng vào ngày 5 hoặc ngày 6 sau khi thử nghiệm không có tác dụng bảo vệ nào của 15mg/kg mAb CR8020 được quan sát thấy ở mô hình thử nghiệm virus H3N2 gây chết ở chuột.

Các kết quả này chỉ ra rằng việc điều trị sau khi nhiễm virus bằng kháng thể đơn dòng chống lại virus cúm H3N2, như được mô tả ở đây và được lấy làm ví dụ bởi kháng thể CR8020, có thể cứu được các đối tượng

động vật có vú, như chuột được thể hiện ở đây, sau khi thử nghiệm với liều virut cúm H3N2 gây chết. Thậm chí ở giai đoạn sau, tức là 4 ngày sau khi nhiễm, kháng thể có thể bảo vệ một phần chuột khỏi nhiễm virut cúm H3N2 gây chết. Nổi bật là, vào ngày 21 sau khi nhiễm, tất cả chuột sống sót được điều trị bằng kháng thể đạt tới mức thể trọng bình thường và không có dấu hiệu lâm sàng còn lại bất kỳ.

#### Ví dụ 16

Hoạt tính phòng ngừa của các kháng thể đơn dòng IgG của người chống lại kích thích bằng H7N7 gây chết in vivo

Một thử nghiệm được tiến hành để thử nghiệm tác dụng phòng ngừa của các kháng thể đơn dòng như được mô tả ở đây, ví dụ CR8020, chống lại sự kích thích bằng virut cúm H7N7 gây chết in vivo. MAb CR8020 được thử nghiệm hiệu quả phòng ngừa trên mô hình kích thích gây chết chuột trong đó chuột được thử nghiệm virut cúm A/Chicken/Netherlands/621557/2003 (H7N7) (Central Veterinary Institute (CVI), Lelystad, The Netherlands). Virut A/CH/NL/621557/03 (H7N7) được đưa vào chuột sau 3 lần cấy chuyển phôi sang phôi. Virut cấy chuyển lần thứ 3 được đưa vào chuột được nhân giống trong trứng gà có phôi trong phòng thí nghiệm của CVI. Tất cả chuột (Balb/c, chuột cái, 6-8 tuần tuổi, n=8 con mỗi nhóm) được làm thích nghi với môi trường và được duy trì trong một khoảng thời gian ít nhất 4 ngày trước khi bắt đầu thử nghiệm. MAb CR8020 được dùng với liều 30, 10, 3 hoặc 1mg/kg qua đường tĩnh mạch ở tĩnh mạch đuôi (*vena coccygeus*) vào ngày -1 trước khi thử nghiệm, giả sử thể trọng trung bình của mỗi con chuột là 18g và thể tích liều cố định là 0,2ml. Nhóm đối chứng được sử dụng liều 30mg/kg đối chứng âm mAb CR3014. Sau đó, chuột được thử nghiệm vào ngày 0 với liều 25 LD<sub>50</sub> virut A/CH/NL/621557/03 (H7N7) bằng cách cấy qua đường mũi. Liều thực tế của virut sử dụng được tính toán bằng cách tính hiệu giá một vài mẫu sao chép từ dịch cấy còn lại sau khi cấy xong cho chuột. Hiệu giá virut (TCID<sub>50</sub>/ml) của dịch cấy được xác định trên tế bào

MDCK. Dấu hiệu lâm sàng và thể trọng được xác định hằng ngày từ ngày -1 trước khi thử nghiệm cho đến khi kết thúc thử nghiệm vào ngày 21 theo cách giống như được mô tả trong ví dụ 14. Để phân tích lượng mAb trong huyết thanh vào ngày 0 và xác định sự có mặt của các kháng thể ức chế sự ngưng kết (hemagglutination inhibiting-HI) vào ngày 21, các mẫu máu được lấy từ tất cả các chuột vào ngày D0, ngay trước khi thử nghiệm, và vào ngày D21 sau khi nhiễm.

Tất cả các con chuột đều nhanh nhẹn và dường như khỏe mạnh mà không có dấu hiệu bệnh trong giai đoạn thích nghi với môi trường. Fig.14A thể hiện tỷ lệ sống sót của chuột sau khi sử dụng mAb. Chuột được dùng mAb CR8020 với liều 1mg/kg hoặc liều cao hơn có tỷ lệ sống sót là 100%, trong khi đó nhóm sử dụng mAb đối chứng có tỷ lệ sống sót là 0%.

Fig.14B thể hiện sự thay đổi thể trọng trung bình của chuột trong thời gian thử nghiệm 21 ngày sau khi sử dụng mAb. Trong các nhóm dùng mAb CR8020 với lượng 3, 10 và 30mg/kg, chuột không giảm trọng lượng trong thời gian thử nghiệm 21 ngày, trong khi đó ở nhóm dùng mAb CR8020 với lượng 1mg/kg và nhóm dùng mAb đối chứng, quan sát thấy có sự giảm trọng lượng, và thể trọng trung bình của chuột ở nhóm dùng mAb CR8020 với lượng 1mg/kg phục hồi đến mức cơ bản vào ngày 21. Sự thay đổi thể trọng được phân tích chi tiết hơn bằng cách phân tích diện tích dưới đường cong (Area under the Curve-AUC) (bảng 19). Đối với phân tích diện tích dưới đường cong, thể trọng quan sát được lần cuối được chuyển đến ngày 21 nếu chuột bị chết/được gây chết trong quá trình thử nghiệm. Nói tóm lại, trọng lượng của mỗi chuột vào ngày 0 được dùng làm giá trị cơ bản và sự thay đổi trọng lượng từ ngày 0 đến ngày 21 được xác định so với mức cơ bản. AUC được xác định là tổng diện tích bên trên và diện tích bên dưới mức cơ bản.

Có một mối quan hệ ngược rõ ràng giữa mức giảm trọng lượng và liều kháng thể được sử dụng. Nếu nồng độ kháng thể tăng lên, mức giảm trọng lượng sẽ giảm đi. Mức chênh lệch trung bình về sự giảm trọng lượng, so với

mAb đối chứng là 47,44, 79,75, 86,71 và 80,48g\*ngày ở các nhóm dùng mAb CR8020 ở liều 1, 3, 10 và 30mg/kg, tương ứng. Tất cả các mức chênh lệch là có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ).

Điểm số lâm sàng trung bình của chuột được thể hiện trên Fig.14C. Tất cả các con chuột, trừ một hoặc hai con chuột trong mỗi nhóm có dấu hiệu lâm sàng (điểm số = 1) vào ngày 1 sau khi thử nghiệm. Điều này có thể không có liên quan đến việc kích thích bằng virus, vì nhóm không được kích thích trong thử nghiệm này có tác dụng tương tự vào ngày 1 (dữ liệu không được thể hiện).

Trong số các con chuột được điều trị bằng 3, 10 hoặc 30mg/kg mAb CR8020 vào ngày -1 trước khi thử nghiệm, tất cả các con chuột đều sống sót và không con nào trong số các con chuột này có dấu hiệu lâm sàng bất kỳ trong quá trình theo dõi (từ ngày 2 đến ngày 21 sau khi nhiễm). Chuột được điều trị bằng 1mg/kg mAb CR8020 vào ngày -1 trước khi thử nghiệm có tỷ lệ sống sót 100%, nhưng 8 trong số 8 chuột có dấu hiệu lâm sàng đạt điểm số lâm sàng tối đa là 3.

Các kết quả này chỉ ra rằng kháng thể CR8020 của người kháng H3N2 được xác định và phát triển như được mô tả ở đây (CR8020) có thể có khả năng bảo vệ typ phụ khác loài chống lại liều gây chết của virus cúm H7N7 *in vivo*. Nếu được dùng một ngày trước khi bị nhiễm ở liều 3mg/kg hoặc cao hơn, mAb CR8020 có thể ngăn ngừa hoàn toàn biểu hiện lâm sàng của sự nhiễm H7N7 ở chuột. Ở liều 1mg/kg CR8020 dùng một ngày trước khi bị nhiễm, tất cả các chuột đều sống sót sau khi kích thích gây chết, và quan sát thấy sự giảm thể trọng và dấu hiệu lâm sàng được giải quyết hoàn toàn khi kết thúc thời gian thử nghiệm 21 ngày.

Thử nghiệm thứ hai được tiến hành để đánh giá và so sánh hiệu quả phòng ngừa của mAb CR8020, CR8041 và CR8043 trên mô hình chuột thử nghiệm H7N7. MAb CR8020, CR8041 và CR8043 (được tổng hợp trong tế bào PER.C6<sup>®</sup>) được thử nghiệm hiệu quả phòng ngừa ở mô hình chuột được

kích thích gây chết trong đó chuột được làm quen với virus cúm A/Chicken/Netherlands/621557/2003 (H7N7) (Central Veterinary Institute (CVI), Lelystad, Hà Lan). Nói tóm lại, tất cả chuột (Balb/c, chuột cái, 6-8 tuần tuổi, n=8 con mỗi nhóm) được làm quen với môi trường và được duy trì trong một khoảng thời gian ít nhất 4 ngày trước khi bắt đầu thử nghiệm. MAb CR8020 được dùng liều ở 10, 3 hoặc 1mg/kg qua đường tĩnh mạch ở tĩnh mạch đuôi (xương cụt tĩnh mạch) vào ngày -1 trước khi thử nghiệm, giả sử trọng lượng trung bình của mỗi con chuột là 18g và thể tích liều cố định là 0,2ml. Mab CR8041 và CR8043 được sử dụng theo cách tương tự ở liều 30, 10, 3 hoặc 1mg/kg. Nhóm đối chứng được sử dụng liều 30mg/kg mAb đối chứng âm CR3014. Sau khi dùng mAb, chuột được thử nghiệm vào ngày 0 với liều 25 LD<sub>50</sub> chuột được làm quen virus A/CH/NL/621557/03 (H7N7) bằng cách cấy qua đường mũi. Các dấu hiệu lâm sàng và thể trọng được xác định hằng ngày từ ngày -1 trước khi thử nghiệm cho đến khi kết thúc thử nghiệm vào ngày 21.

Trên Fig.15, tỷ lệ sống sót, % thay đổi thể trọng và điểm số lâm sàng của chuột được thể hiện sau khi sử dụng các mAb để phòng bệnh. Như được thể hiện trên Fig.15A, tỷ lệ 100% sống sót được quan sát thấy ở các nhóm nhận liều 3 hoặc 10mg/kg CR8020, 10 hoặc 30mg/kg CR8041 và ở nhóm nhận 30mg/kg CR8043. Ở nhóm dùng mAb đối chứng, tỷ lệ sống sót là 0%. Việc sử dụng CR8020 để phòng bệnh ở cả ba mức liều, và CR8041 ở cả bốn mức liều đã cho thấy sự cải thiện thời gian sống sót đáng kể so với nhóm dùng mAb đối chứng (xếp hạng theo loga,  $p < 0,002$ ). Dùng 1mg/kg CR8043 để phòng bệnh không thu được sự cải thiện đáng kể thời gian sống sót, so với nhóm dùng mAb đối chứng (xếp hạng theo loga,  $p = 0,692$ ). Tăng liều CR8043 đến 3mg/kg hoặc cao hơn, dẫn đến sự cải thiện thời gian sống sót có ý nghĩa thống kê so với nhóm dùng mAb đối chứng (xếp hạng theo loga,  $p \leq 0,034$ ).

Theo phân tích hậu kiểm, thời gian sống sót được so sánh giữa các nhóm dùng liều thấp nhất của các kháng thể mAb CR8020, CR8041 và CR8043. Sử dụng 1mg/kg CR8020 để phòng bệnh dẫn đến sự cải thiện thời gian sống sót có ý nghĩa thống kê so với liều 1mg/kg CR8041 và 1mg/kg CR8043 (xếp hạng theo loga, tương ứng là  $p=0,029$  và  $p<0,001$ ). Ngoài ra, sử dụng 1mg/kg CR8041 để phòng bệnh dẫn đến sự cải thiện thời gian sống sót có ý nghĩa thống kê so với 1mg/kg CR8043 (xếp hạng theo loga,  $p=0,004$ ).

Fig.15B thể hiện sự thay đổi thể trọng trung bình của chuột trong thời gian thử nghiệm 21 ngày sau khi sử dụng các mAb để phòng bệnh. Ở các nhóm dùng mAb CR8020 và mAb CR8041 với liều 1mg/kg, quan sát thấy có sự giảm trọng lượng trầm trọng so với nhóm dùng mAb đối chứng. Ở các nhóm dùng mAb CR8020 và CR8041 với liều cao hơn, mức giảm trọng lượng trong thời gian thử nghiệm 21 ngày là có hạn hoặc không có. Ở các nhóm dùng liều mAb CR8043, quan sát thấy có sự giảm trọng lượng trầm trọng ở tất cả các nhóm, trong đó thể trọng trung bình của nhóm dùng liều 30mg/kg phục hồi gần như đến mức cơ bản vào ngày 21. Sự thay đổi thể trọng được phân tích chi tiết hơn bằng cách phân tích diện tích dưới đường cong (Area under the Curve-AUC) (bảng 21). Có một mối quan hệ ngược rõ ràng giữa mức giảm trọng lượng và liều kháng thể được dùng. Nếu nồng độ kháng thể tăng lên, thì mức giảm trọng lượng sẽ giảm đi. Với liều 1mg/kg CR8020 không có sự giảm có ý nghĩa thống kê về mức giảm trọng lượng so với nhóm đối chứng ( $p=0,356$ ). Sự tăng dần liều dùng lên 3 hoặc 10mg/kg dẫn đến sự giảm có ý nghĩa thống kê của mức giảm trọng lượng so với nhóm đối chứng ( $p<0,001$  ở cả hai trường hợp). Với liều 1mg/kg CR8041 không có sự giảm có ý nghĩa thống kê về mức giảm trọng lượng so với nhóm đối chứng ( $p=1$ ).

Việc tăng liều đến 3, 10 hoặc 30mg/kg CR8041 dẫn đến sự giảm có ý nghĩa thống kê mức giảm trọng lượng so với nhóm đối chứng ( $p<0,001$  trong

cả ba trường hợp). Với liều 1, 3 hoặc 10mg/kg CR8043 không có sự giảm có ý nghĩa thống kê mức giảm trọng lượng so với nhóm đối chứng ( $p=0,997$ ,  $0,510$  và  $0,992$  tương ứng). Việc tăng liều đến 30mg/kg dẫn đến sự giảm có ý nghĩa thống kê mức giảm trọng lượng, so với nhóm đối chứng ( $p<0,001$ ). Theo một phân tích khác về AUC trung bình của dữ liệu thay đổi thể trọng, các mAb CR8020, CR8041 và CR8043 được so sánh nhờ phân tích phương sai đơn biến với kháng thể và liều được bao gồm trong mô hình thử nghiệm dưới dạng các yếu tố cố định. Vì liều 30mg/kg CR8020 không được bao gồm trong thử nghiệm này, việc so sánh chỉ giới hạn ở các liều kháng thể 1, 3 và 10mg/kg. Các mức chênh lệch giữa các kháng thể được tính toán bằng cách sử dụng giá trị trung bình biên có điều chỉnh Sidak để so sánh nhiều nhóm. Trong ba liều kháng thể được xem xét, việc điều trị bằng CR8020 dẫn đến sự giảm được cải thiện có ý nghĩa thống kê của mức giảm trọng lượng so với CR8041 và CR8043 (mức chênh lệch trong các biện pháp giới hạn là 23,73 và 68,29g\*ngày, tương ứng  $p=0,013$  và  $p<0,001$ ). Ngoài ra, xử lý bằng CR8041 dẫn đến giảm mức giảm trọng lượng được cải thiện có ý nghĩa thống kê so với CR8043 (hiệu số giá trị trung bình biên là 44,56g\*ngày,  $p<0,001$ ).

Điểm số lâm sàng trung bình của chuột được thể hiện trên Fig.15C. Tất cả các con chuột, trừ một con có dấu hiệu lâm sàng (điểm số = 1, lông bờm xồm) vào ngày 0 (nhóm sử dụng 3mg/kg CR8020) từ ngày 0 đến ngày 3. Mức tăng này không được quan sát ở giai đoạn làm quen với môi trường và vào ngày -1. Nguyên nhân của điểm số lâm sàng tăng này là không rõ ràng. Trong số các nhóm được điều trị bằng 3 hoặc 10mg/kg mAb CR8020 vào ngày -1 trước khi thử nghiệm, điểm số lâm sàng trung bình quay trở lại 0 vào ngày 9 sau khi thử nghiệm, trong khi đó ở nhóm đối chứng điểm số lâm sàng trung bình đạt tới 4 vào ngày 8, và tất cả chuột bị chết hoặc được gây chết vào ngày 9. Nhóm sử dụng CR8020 1mg/kg có điểm số lâm sàng trung bình là 3 từ ngày 4 đến 13, trở về điểm số 0 vào ngày 15. Trong số các nhóm

được điều trị bằng liều 3, 10 hoặc 30mg/kg mAb CR8041 vào ngày -1 trước khi thử nghiệm, điểm số lâm sàng trung bình trở về 0 vào ngày 9, 10 hoặc 12 sau khi thử nghiệm, tương ứng. Nhóm CR8041 1mg/kg đạt tới điểm số lâm sàng trung bình là 4 vào ngày 10 sau khi thử nghiệm. Trong số các nhóm được điều trị bằng 1, 3 hoặc 10mg/kg CR8043, điểm số lâm sàng trung bình đạt tới 4 vào ngày 9, 9 hoặc 12 tương ứng, trong khi đó điểm số lâm sàng trung bình của nhóm sử dụng 30mg/kg CR8043 đạt tới 3 từ ngày 6 đến 13 và trở về 0 vào ngày 14.

Các kết quả trên đây chỉ rõ rằng các kháng thể của người kháng H3N2 CR8020, CR8041 và CR8043 có thể có tác dụng bảo vệ typ phụ khác loài chống lại liều gây chết của cúm H7N7 in vivo. Mab CR8020 được phát hiện là có hiệu lực nhất trong số ba kháng thể mAb chống lại virus cúm A/CH/NL/621557/03 (H7N7) đã thích nghi ở chuột, dựa trên kết quả của các phân tích hậu kiểm về thời gian sống sót và mức thay đổi thể trọng. Ở liều 3 hoặc 10mg/kg mAb CR8020 được dùng một ngày trước khi nhiễm, 100% chuột đều sống sót sau khi kích thích gây chết và biểu hiện lâm sàng của sự nhiễm H7N7 bị giảm mạnh. Ở liều 1mg/kg CR8020 được dùng một ngày trước khi nhiễm, 75% chuột sống sót sau khi thử nghiệm gây chết trong thử nghiệm này, và dấu hiệu lâm sàng của chuột sống sót được giải quyết hoàn toàn vào ngày 15 của thời gian thử nghiệm 21 ngày.

#### Ví dụ 17

Hoạt tính điều trị của các kháng thể đơn dòng IgG người chống lại sự kích thích bằng H7N7 gây chết in vivo

Thử nghiệm này được tiến hành để đánh giá hiệu quả điều trị và cửa sổ của mAb CR8020 trong mô hình thử nghiệm với H7N7. MAb CR8020 (được tổng hợp trong tế bào PER.C6<sup>®</sup>) được thử nghiệm hiệu quả điều trị trong mô hình kích thích gây chết ở chuột, trong đó chuột được làm quen với virus cúm A/Chicken/Netherlands/621557/2003 (H7N7) (Central Veterinary Institute (CVI), Lelystad, Hà Lan). Nói tóm lại, tất cả các con chuột (Balb/c,

chuột cái, 6-8 tuần tuổi,  $n=8$  con mỗi nhóm) được làm quen với môi trường và được duy trì trong thời gian ít nhất 4 ngày trước khi bắt đầu thử nghiệm. MAb CR8020 được dùng liều ở 15mg/kg qua đường tĩnh mạch trong tĩnh mạch đuôi (tĩnh mạch xương cụt) vào ngày -1 trước khi thử nghiệm, (nhóm 1; đối chứng dương phòng bệnh) hoặc vào ngày 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6 sau khi thử nghiệm (nhóm 2-7), giả sử trọng lượng trung bình của mỗi con chuột là 18g và thể tích liều cố định là 0,2ml. Nhóm 8 nhận mAb CR3014 đối chứng âm (15mg/kg) vào ngày 1 sau khi thử nghiệm. Chuột được thử nghiệm vào ngày 0 với liều 25 LD<sub>50</sub> với virus A/CH/NL/621557/03 (H7N7) đã thích nghi ở chuột bằng cách truyền qua đường mũi. Các dấu hiệu lâm sàng và thể trọng được xác định hằng ngày từ ngày -1 trước khi thử nghiệm cho đến khi kết thúc thử nghiệm vào ngày 21.

Fig.16A thể hiện tỷ lệ sống sót của chuột, sau khi dùng qua đường tĩnh mạch mAb CR8020 (15mg/kg ở tất cả các nhóm) hoặc mAb đối chứng (15mg/kg). Nếu 15mg/kg mAb CR8020 được dùng vào ngày -1 trước khi thử nghiệm hoặc ngày 1 hoặc 3 sau khi thử nghiệm, tất cả các con chuột đều sống sót sau khi thử nghiệm virus, trong khi đó nhóm dùng mAb đối chứng có tỷ lệ sống sót là 0%. Nếu 15mg/kg mAb CR8020 được dùng vào các ngày 2 và 4, tỷ lệ sống sót 87,5% và 50% tương ứng được quan sát. Thời gian sống sót của các nhóm này chênh lệch có ý nghĩa thống kê với thời gian sống sót của nhóm dùng mAb đối chứng ( $p=0,002$  và  $p=0,014$  tương ứng). Các nhóm được điều trị bằng 15mg/kg CR8020 vào ngày 5 và 6 có tỷ lệ sống sót là 0% và không có sự chênh lệch có ý nghĩa thống kê về thời gian sống sót của các nhóm này so với nhóm dùng mAb đối chứng ( $p=0,837$  và  $p=0,876$  tương ứng).

Trên Fig.16B, sự thay đổi thể trọng trung bình so với ngày 0 của chuột trong thời gian thử nghiệm 21 ngày được thể hiện. Nói chung, mức giảm thể trọng trung bình tăng khi mAb CR8020 được dùng ở các thời điểm muộn hơn sau khi thử nghiệm. Tuy nhiên, đường cong thể trọng trung bình của các

nhóm điều trị bằng mAb CR8020 vào ngày 2 và 3 cắt nhau ở ngày 10, do có một con chuột không sống sót ở nhóm điều trị vào ngày 2. Phân tích diện tích dưới đường cong thay đổi thể trọng cho thấy sự thay đổi rõ rệt mức giảm trọng lượng trung bình giữa các nhóm điều trị vào các ngày từ -1 đến 3 so với nhóm điều trị vào các ngày từ 4 đến 6 (bảng 22). Việc điều trị bằng 15mg/kg CR8020 vào ngày -1 trước khi thử nghiệm hoặc vào ngày 1, 2 hoặc 3 sau khi thử nghiệm dẫn đến sự giảm có ý nghĩa thống kê mức giảm trọng lượng so với nhóm đối chứng ( $p < 0,001$  đối với cả 4 nhóm). Việc điều trị bằng 15mg/kg CR8020 vào ngày 4, 5 hoặc ngày 6 không dẫn đến sự giảm có ý nghĩa thống kê mức giảm trọng lượng so với nhóm đối chứng ( $p = 0,566$ ,  $p = 0,979$  và  $p = 0,858$ , tương ứng).

Điểm số lâm sàng trung bình của chuột được thể hiện trên Fig.16C. Trong số các con chuột được điều trị bằng 15mg/kg CR8020 vào ngày -1 trước khi thử nghiệm, tất cả chúng đều sống sót và không con nào trong số các con chuột này có dấu hiệu lâm sàng bất kỳ trong thời gian quan sát. Chuột được điều trị vào ngày 1 sau khi thử nghiệm đều sống sót 100%, tuy nhiên, 7 trong số 8 con chuột có dấu hiệu lâm sàng đạt tới điểm số lâm sàng tối đa là 1. Con chuột thứ 8 đạt tới điểm số lâm sàng tối đa là 3. Trong số tất cả các con chuột được điều trị vào ngày 2 sau khi thử nghiệm chỉ có một con chuột sống sót. Các con chuột sống sót (7 trong số 8 con) có dấu hiệu lâm sàng đạt tới điểm số lâm sàng tối đa là 1 ( $n = 4$ ) hoặc 3 ( $n = 3$ ). Các con chuột được điều trị vào ngày 3 sau khi thử nghiệm đều sống sót 100% và tất cả chúng đều có dấu hiệu lâm sàng với điểm số lâm sàng tối đa là 3. Trong số các con chuột được điều trị vào ngày 4 sau khi thử nghiệm, 50% sống sót sau khi kích thích gây chết. Chuột sống sót có dấu hiệu lâm sàng đạt tới điểm số lâm sàng tối đa là 3. Chuột được điều trị vào ngày 5 hoặc 6 sau khi thử nghiệm không sống sót. Điểm số lâm sàng được phân tích nhờ quy trình GENMOD (SAS) để làm cho mô hình thích hợp với việc đo lặp lại trong đó chuột là đối tượng và dữ liệu được đánh giá trên thang đo thứ tự (bảng 23).

Từ các nhóm được điều trị bằng 15mg/kg mAb CR8020 vào ngày -1 trước khi thử nghiệm và ngày 1, 2, 3 hoặc 4 sau khi thử nghiệm, điểm số lâm sàng trung bình chênh lệch có ý nghĩa thống kê so với nhóm dùng mAb đối chứng trong phần lớn thời gian thử nghiệm 21 ngày (ngày 8-21;  $p \leq 0,038$  đối với cả 4 nhóm). Từ nhóm được điều trị bằng 15mg/kg mAb CR8020 vào ngày 5 sau khi thử nghiệm điểm số lâm sàng trung bình chênh lệch đáng kể so với nhóm dùng mAb đối chứng chỉ vào ngày 8 ( $p \leq 0,001$ ). Mức chênh lệch này mặc dù có ý nghĩa thống kê nhưng không được coi là phù hợp. Điểm số lâm sàng trung bình của nhóm được điều trị bằng 15mg/kg mAb CR8020 vào ngày 6 không chênh lệch có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng.

Thử nghiệm này rõ ràng cho thấy rằng việc điều trị bằng 15mg/kg mAb CR8020 có khả năng bảo vệ 87,5-100% nếu được dùng đến ngày 3 sau khi thử nghiệm ở mô hình thử nghiệm liều H7N7 gây chết ở chuột. Nếu được dùng vào ngày 4 sau khi thử nghiệm, việc điều trị bằng 15mg/kg mAb CR8020 chỉ có thể bảo vệ được một phần. Nếu được dùng vào ngày 5 hoặc ngày 6 sau khi thử nghiệm, không quan sát được tác dụng bảo vệ của liều 15mg/kg mAb CR8020 ở mô hình thử nghiệm liều H7N7 gây chết ở chuột. Nói cách khác, nếu được dùng 4 ngày hoặc lâu hơn trước khi chết, CR8020 có khả năng bảo vệ ở mô hình thử nghiệm gây chết chuột này.

#### Ví dụ 18

Hỗn hợp các kháng thể đơn dòng mà trung hòa có hiệu quả nhiều typ phụ virus cúm thuộc nhóm phần 1 và 2.

Vaccine cúm mùa mỗi năm gồm có hai chế phẩm khác nhau để tạo tính miễn dịch đối với các chủng virus cúm A, tiêu biểu cho typ phụ H1 đang lưu hành và chủng H3 đang lưu hành. Lý do cơ bản cho điều này là các chủng virus cúm thuộc typ phụ H1 và H3 khác nhau nhiều đến nỗi mà các vaccine được điều chế từ một trong hai typ phụ này không có tác dụng bảo vệ đối với typ phụ còn lại. Quả thực, chế phẩm chứa kháng thể đơn dòng có khả năng bảo vệ rộng để điều trị bệnh cúm là hữu hiệu chống lại các chủng có

nguồn gốc từ cả hai nhóm phả hệ 1 (H1) và nhóm 2 (H3). Tuy nhiên, lại do sự khác nhau về trình tự giữa các phân tử HA nên khó tìm thấy kháng thể đơn này. Ví dụ, kháng thể Fab28 được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 2009/115972 liên kết và trung hòa các typ phụ H1 tốt hơn các virus typ phụ H3 có thể là do sự bảo toàn epitop giữa các virus nhóm 1 và nhóm 2 kém hơn so với các virus trong nhóm phả hệ. Để đạt được mục tiêu của sản phẩm đơn hữu hiệu chống lại nhiều typ phụ virus cúm có nguồn gốc từ cả hai nhóm phả hệ, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể kết hợp hai hoặc nhiều kháng thể khác nhau trong một chế phẩm hỗn hợp. Để thành công, chế phẩm này phải chứa các kháng thể mà không tương tác với nhau.

Các kháng thể mà trung hòa hữu hiệu các virus thuộc các typ phụ H1, H5 và H9 được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO2008/028946, trong đó các kháng thể CR6261 và CR6323 là các ví dụ tiêu biểu. Vùng liên kết (epitop) của CR6261 được mô tả chi tiết hơn nhờ kết tinh đồng thời các phân tử HA của typ phụ H1 hoặc H5 và CR6261 (cũng xem các cổng truy nhập cơ sở dữ liệu PDB 3GBM và 3GBM ở trang <http://www.pdb.org> and Ekiert et al., 2009). Để nghiên cứu xem các kháng thể đơn dòng theo sáng chế có thể được dùng kết hợp với các kháng thể CR6261 mô tả trên đây hay không, cần thử nghiệm xem các kháng thể này có khả năng liên kết với các typ phụ có nguồn gốc từ cả hai nhóm phả hệ 1 và 2 hay không. Về vấn đề này, các thử nghiệm liên kết Elisa và FACS được tiến hành như được mô tả trong ví dụ 7 nhờ các phân tử HA của các typ phụ H1 và H5 cũng như là các typ phụ H3 và H7 cùng với CR6261, CR6323, CR8001, CR8020, CR8041 và CR8043. Các kết quả được thể hiện tóm tắt trong bảng 20 và cho thấy rằng các kháng thể có tác dụng trung hòa phổ rộng các virus thuộc nhóm 1 không liên kết với các virus thuộc nhóm 2 và ngược lại. Vì các kháng thể này không tương tác với nhau nên có thể hy vọng rằng hiệu lực trung hòa của các kháng thể

này chống lại các typ phụ virus tương ứng sẽ được duy trì dẫn đến tác dụng trung hòa hiệu quả các typ phụ của cả nhóm 1 và 2.

Do đó, chế phẩm hỗn hợp một mặt chứa CR6261 và/hoặc CR6323 và CR8020, CR8041, và/hoặc mặt khác chứa CR8043 sẽ chống lại hữu hiệu các virus thuộc ít nhất cả hai typ phụ H1 và H3. Do đó, có thể bảo vệ hiệu quả chống lại các typ phụ của virus cúm thuộc nhóm phần hệ 1 và 2 nhờ sử dụng một chế phẩm.

Ví dụ 19

Động học quá trình liên kết của các phân tử liên kết

Ái lực của các đoạn Fab được phân cắt nhờ papain của CR8020 và CR8043 được đánh giá bằng thiết bị Octet RED và các bộ phận cảm biến sinh học streptavidin là sản phẩm của ForteBio. Các kháng nguyên hemagglutinin của virus cúm thuộc typ phụ H3 A/Wisconsin/67/2005 (Protein Science) và A/Brisbane/10/2007 (Protein Science) được biotiny hóa để cố định với bộ phận cảm biến sinh học streptavidin (ForteBio). Các thử nghiệm liên kết Fab được lặp lại 5 lần bằng cách sử dụng khoảng nồng độ nằm trong khoảng từ 2,3 đến 150nM và 0,16 đến 30nM lần lượt đối với CR8020 và CR8043, trong dung dịch đệm động học (ForteBio, 18.5032). Thử nghiệm này được tiến hành để đo ái lực trên phần mềm phân tích Octet là như sau: cố định hemagglutinin đã biotiny hóa với các bộ phận cảm biến sinh học streptavidin trong 1800 giây, sau đó cho liên kết với các Fab đã pha loãng liên tiếp CR8020 và CR8043 trong 1200 giây và sau đó tách trong dung dịch đệm động học trong 1800 giây. Dữ liệu liên kết được phân tích bằng chương trình phần mềm phân tích Octet bằng cách sử dụng mô hình 1:1.

Hằng số ái lực (giá trị  $K_d$ ) của phân tử liên kết đối với HA của typ phụ H3 được thể hiện trong bảng 24.

Bảng 1: Khuếch đại Vkapa, Vlamda và VH vòng thứ nhất

| Tên đoạn mồi   | Trình tự nucleotit của đoạn mồi | SEQ ID NO: |
|----------------|---------------------------------|------------|
| OK1 (HuVK1B)   | GAC ATC CAG WTG ACC CAG TCT CC  | 192        |
| OK2 (HuVK2)    | GAT GTT GTG ATG ACT CAG TCT CC  | 193        |
| OK3 (HuVK2B2)  | GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CC  | 194        |
| OK4 (HuVK3B)   | GAA ATT GTG WTG ACR CAG TCT CC  | 195        |
| OK5 (HuVK5)    | GAA ACG ACA CTC ACG CAG TCT CC  | 196        |
| OK6 (HuVK6)    | GAA ATT GTG CTG ACT CAG TCT CC  | 197        |
| OCK (HuCK)     | ACA CTC TCC CCT GTT GAA GCT CTT | 198        |
| OL1 (HuVL1A)*  | CAG TCT GTG CTG ACT CAG CCA CC  | 199        |
| OL1 (HuVL1B)*  | CAG TCT GTG YTG ACG CAG CCG CC  | 200        |
| OL1 (HuVL1C)*  | CAG TCT GTC GTG ACG CAG CCG CC  | 201        |
| OL2 (HuVL2B)   | CAG TCT GCC CTG ACT CAG CC      | 202        |
| OL3 (HuVL3A)   | TCC TAT GWG CTG ACT CAG CCA CC  | 203        |
| OL4 (HuVL3B)   | TCT TCT GAG CTG ACT CAG GAC CC  | 204        |
| OL5 (HuVL4B)   | CAG CYT GTG CTG ACT CAA TC      | 205        |
| OL6 (HuVL5)    | CAG GCT GTG CTG ACT CAG CCG TC  | 206        |
| OL7 (HuVL6)    | AAT TTT ATG CTG ACT CAG CCC CA  | 207        |
| OL8 (HuVL7/8)  | CAG RCT GTG GTG ACY CAG GAG CC  | 208        |
| OL9 (HuVL9)#   | CWG CCT GTG CTG ACT CAG CCM CC  | 209        |
| OL9 (HuVL10)#  | CAG GCA GGG CTG ACT CAG         | 210        |
| OCL (HuCL2)X   | TGA ACA TTC TGT AGG GGC CAC TG  | 211        |
| OCL (HuCL7)X   | AGA GCA TTC TGC AGG GGC CAC TG  | 212        |
| OH1(HuVH1B7A)+ | CAG RTG CAG CTG GTG CAR TCT GG  | 213        |
| OH1 (HuVH1C)+  | SAG GTC CAG CTG GTR CAG TCT GG  | 214        |
| OH2 (HuVH2B)   | CAG RTC ACC TTG AAG GAG TCT GG  | 215        |
| OH3 (HuVH3A)   | GAG GTG CAG CTG GTG GAG         | 216        |
| OH4 (HuVH3C)   | GAG GTG CAG CTG GTG GAG WCY GG  | 217        |
| OH5 (HuVH4B)   | CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GG  | 218        |

| Tên đoạn mồi | Trình tự nucleotit của đoạn mồi | SEQ ID NO: |
|--------------|---------------------------------|------------|
| OH6 (HuVH4C) | CAG STG CAG CTG CAG GAG TCS GG  | 219        |
| OH7 (HuVH6A) | CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GG  | 220        |
| OCM (HuCIgM) | TGG AAG AGG CAC GTT CTT TTC TTT | 221        |

\* trộn theo tỷ lệ 1:1:1

# trộn theo tỷ lệ 1:1

X trộn theo tỷ lệ 1:1

+ trộn theo tỷ lệ 1:1

Bảng 2: Khuếch đại Vkapa, Vlamda và VH vòng thứ hai

| Tên đoạn mồi       | Trình tự nucleotit đoạn mồi                                        | SEQ ID NO |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| OK1S (HuVK1B-SAL)  | TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAC ATC CAG<br>WTG ACC CAG TCT CC          | 222       |
| OK2S (HuVK2-SAL)   | TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAT GTT GTG ATG<br>ACT CAG TCT CC          | 223       |
| OK3S (HuVK2B2-SAL) | TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAT ATT GTG ATG<br>ACC CAG ACT CC          | 224       |
| OK4S (HuVK3B-SAL)  | TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ATT GTG<br>WTG ACR CAG TCT CC          | 225       |
| OK5S (HuVK5-SAL)   | TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ACG ACA<br>CTC ACG CAG TCT CC          | 226       |
| OK6S (HuVK6-SAL)   | TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ATT GTG CTG<br>ACT CAG TCT CC          | 227       |
| OJK1 (HuJK1-NOT)   | GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT<br>GAT TTC CAC CTT GGT CCC | 228       |
| OJK2 (HuJK2-NOT)   | GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT<br>GAT CTC CAG CTT GGT CCC | 229       |
| OJK3 (HuJK3-NOT)   | GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT<br>GAT ATC CAC TTT GGT CCC | 230       |

| Tên đoạn mồi       | Trình tự nucleotit đoạn mồi                                        | SEQ ID NO |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| OJK4 (HuJK4-NOT)   | GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT<br>GAT CTC CAC CTT GGT CCC | 231       |
| OJK5 (HuJK5-NOT)   | GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT<br>AAT CTC CAG TCG TGT CCC | 232       |
| OL1S (HuVL1A-SAL)* | TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTG CTG<br>ACT CAG CCA CC          | 233       |
| OL1S (HuVL1B-SAL)* | TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTG YTG<br>ACG CAG CCG CC          | 234       |
| OL1S (HuVL1C-SAL)* | TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTC GTG<br>ACG CAG CCG CC          | 235       |
| OL2S (HuVL2B-SAL)  | TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GCC CTG<br>ACT CAG CC              | 236       |
| OL3S (HuVL3A-SAL)  | TGA GCA CAC AGG TCG ACG TCC TAT GWG<br>CTG ACT CAG CCA CC          | 237       |
| OL4S (HuVL3B-SAL)  | TGA GCA CAC AGG TCG ACG TCT TCT GAG CTG<br>ACT CAG GAC CC          | 238       |
| OL5S (HuVL4B-SAL)  | TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG CYT GTG CTG<br>ACT CAA TC              | 239       |
| OL6S (HuVL5-SAL)   | TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG GCT GTG CTG<br>ACT CAG CCG TC          | 240       |
| OL7S (HuVL6-SAL)   | TGA GCA CAC AGG TCG ACG AAT TTT ATG CTG<br>ACT CAG CCC CA          | 241       |
| OL8S (HuVL7/8-SAL) | TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG RCT GTG GTG<br>ACY CAG GAG CC          | 242       |
| OL9S (HuVL9-SAL)#  | TGA GCA CAC AGG TCG ACG CWG CCT GTG<br>CTG ACT CAG CCM CC          | 243       |
| OL9S (HuVL10-SAL)# | TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG GCA GGG<br>CTG ACT CAG                 | 244       |

| Tên đoạn mồi       | Trình tự nucleotit đoạn mồi                                                   | SEQ ID NO |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| OJL1 (HuJL1-NOT)   | GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG<br>GAC GGT GAC CTT GGT CCC            | 245       |
| OJL2 (HuJL2/3-NOT) | GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG<br>GAC GGT CAG CTT GGT CCC            | 246       |
| OJL3 (HuJL7-NOT)   | GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC GAG<br>GAC GGT CAG CTG GGT GCC            | 247       |
| OH1S (HuVH1B-SFI)+ | GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG<br>GCC CAG RTG CAG CTG GTG CAR TCT GG | 248       |
| OH1S (HuVH1C-SFI)+ | GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG<br>GCC SAG GTC CAG CTG GTR CAG TCT GG | 249       |
| OH2S (HuVH2B-SFI)  | GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG<br>GCC CAG RTC ACC TTG AAG GAG TCT GG | 250       |
| OH3S (HuVH3A-SFI)  | GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG<br>GCC GAG GTG CAG CTG GTG GAG        | 251       |
| OH4S (HuVH3C-SFI)  | GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG<br>GCC GAG GTG CAG CTG GTG GAG WCY GG | 252       |
| OH5S (HuVH4B-SFI)  | GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG<br>GCC CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GG | 253       |
| OH6S (HuVH4C-SFI)  | GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG<br>GCC CAG STG CAG CTG CAG GAG TCS GG | 254       |
| OH7S (HuVH6A-SFI)  | GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG<br>GCC CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GG | 255       |
| OJH1 (HuJH1/2-XHO) | GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC RGT GAC CAG<br>GGT GCC                            | 256       |
| OJH2 (HuJH3-XHO)   | GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CAT<br>TGT CCC                            | 257       |
| OJH3 (HuJH4/5-XHO) | GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CAG<br>GGT TCC                            | 258       |
| OJH4 (HuJH6-XHO)   | GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CGT<br>GGT CCC                            | 259       |

\* trộn theo tỷ lệ 1:1:1

# trộn theo tỷ lệ 1:1

+ trộn theo tỷ lệ 1:1

Bảng 3. Khái quát sự khuếch đại các vùng VL vòng thứ hai

| Khuôn | Đoạn<br>mỗi 5' | Đoạn<br>mỗi 3' | Sản<br>phẩm | Tỷ lệ<br>PK/PL<br>(%) | Nhóm | Tỷ lệ<br>VL (%) |
|-------|----------------|----------------|-------------|-----------------------|------|-----------------|
| K1    | OK1S           | OJK1           | K1J1        | 25                    | PK1  | 30              |
|       | OK1S           | OJK2           | K1J2        | 25                    |      |                 |
|       | OK1S           | OJK3           | K1J3        | 10                    |      |                 |
|       | OK1S           | OJK4           | K1J4        | 25                    |      |                 |
|       | OK1S           | OJK5           | K1J5        | 15                    |      |                 |
| K2    | OK2S           | OJK1           | K2J1        | 25                    | PK2  | 4               |
|       | OK2S           | OJK2           | K2J2        | 25                    |      |                 |
|       | OK2S           | OJK3           | K2J3        | 10                    |      |                 |
|       | OK2S           | OJK4           | K2J4        | 25                    |      |                 |
|       | OK2S           | OJK5           | K2J5        | 15                    |      |                 |
| K3    | OK3S           | OJK1           | K3J1        | 25                    | PK3  | 1               |
|       | OK3S           | OJK2           | K3J2        | 25                    |      |                 |
|       | OK3S           | OJK3           | K3J3        | 10                    |      |                 |
|       | OK3S           | OJK4           | K3J4        | 25                    |      |                 |
|       | OK3S           | OJK5           | K3J5        | 15                    |      |                 |
| K4    | OK4S           | OJK1           | K4J1        | 25                    | PK4  | 19              |
|       | OK4S           | OJK2           | K4J2        | 25                    |      |                 |
|       | OK4S           | OJK3           | K4J3        | 10                    |      |                 |
|       | OK4S           | OJK4           | K4J4        | 25                    |      |                 |
|       | OK4S           | OJK5           | K4J5        | 15                    |      |                 |
|       | OK5S           | OJK1           | K5J1        | 25                    |      |                 |

|    |      |      |      |    |     |    |
|----|------|------|------|----|-----|----|
| K5 | OK5S | OJK2 | K5J2 | 25 | PK5 | 1  |
|    | OK5S | OJK3 | K5J3 | 10 |     |    |
|    | OK5S | OJK4 | K5J4 | 25 |     |    |
|    | OK5S | OJK5 | K5J5 | 15 |     |    |
| K6 | OK6S | OJK1 | K6J1 | 25 | PK6 | 5  |
|    | OK6S | OJK2 | K6J2 | 25 |     |    |
|    | OK6S | OJK3 | K6J3 | 10 |     |    |
|    | OK6S | OJK4 | K6J4 | 25 |     |    |
|    | OK6S | OJK5 | K6J5 | 15 |     |    |
| L1 | OL1S | OJL1 | L1J1 | 30 | PL1 | 14 |
|    | OL1S | OJL2 | L1J2 | 60 |     |    |
|    | OL1S | OJL3 | L1J3 | 10 |     |    |
| L2 | OL2S | OJL1 | L2J1 | 30 | PL2 | 10 |
|    | OL2S | OJL2 | L2J2 | 60 |     |    |
|    | OL2S | OJL3 | L2J3 | 10 |     |    |
| L3 | OL3S | OJL1 | L3J1 | 30 | PL3 | 10 |
|    | OL3S | OJL2 | L3J2 | 60 |     |    |
|    | OL3S | OJL3 | L3J3 | 10 |     |    |
| L4 | OL4S | OJL1 | L4J1 | 30 | PL4 | 1  |
|    | OL4S | OJL2 | L4J2 | 60 |     |    |
|    | OL4S | OJL3 | L4J3 | 10 |     |    |
| L5 | OL5S | OJL1 | L5J1 | 30 | PL5 | 1  |
|    | OL5S | OJL2 | L5J2 | 60 |     |    |
|    | OL5S | OJL3 | L5J3 | 10 |     |    |
| L6 | OL6S | OJL1 | L6J1 | 30 | PL6 | 1  |
|    | OL6S | OJL2 | L6J2 | 60 |     |    |
|    | OL6S | OJL3 | L6J3 | 10 |     |    |
|    | OL7S | OJL1 | L7J1 | 30 |     |    |

|    |      |      |      |    |     |      |
|----|------|------|------|----|-----|------|
| L7 | OL7S | OJL2 | L7J2 | 60 | PL7 | 1    |
|    | OL7S | OJL3 | L7J3 | 10 |     |      |
| L8 | OL8S | OJL1 | L8J1 | 30 | PL8 | 1    |
|    | OL8S | OJL2 | L8J2 | 60 |     |      |
|    | OL8S | OJL3 | L8J3 | 10 |     |      |
| L9 | OL9S | OJL1 | L9J1 | 30 | PL9 | 1    |
|    | OL9S | OJL2 | L9J2 | 60 |     |      |
|    | OL9S | OJL3 | L9J3 | 10 |     |      |
|    |      |      |      |    | VL  | 100% |

Bảng 4. Khái quát sự khuếch đại các vùng VH vòng thứ hai

| Khuôn | Đoạn<br>mỗi 5' | Đoạn<br>mỗi 3' | Sản<br>phẩm | Tỷ lệ<br>PK/PL<br>(%) | nhóm | Tỷ lệ<br>VH (%) |
|-------|----------------|----------------|-------------|-----------------------|------|-----------------|
| H1    | OH1S           | OJH1           | H1J1        | 10                    | PH1  | 25              |
|       | OH1S           | OJH2           | H1J2        | 10                    |      |                 |
|       | OH1S           | OJH3           | H1J3        | 60                    |      |                 |
|       | OH1S           | OJH4           | H1J4        | 20                    |      |                 |
| H2    | OH2S           | OJH1           | H2J1        | 10                    | PH2  | 2               |
|       | OH2S           | OJH2           | H2J2        | 10                    |      |                 |
|       | OH2S           | OJH3           | H2J3        | 60                    |      |                 |
|       | OH2S           | OJH4           | H2J4        | 20                    |      |                 |
| H3    | OH3S           | OJH1           | H3J1        | 10                    | PH3  | 25              |
|       | OH3S           | OJH2           | H3J2        | 10                    |      |                 |
|       | OH3S           | OJH3           | H3J3        | 60                    |      |                 |
|       | OH3S           | OJH4           | H3J4        | 20                    |      |                 |
| H4    | OH4S           | OJH1           | H4J1        | 10                    | PH4  | 25              |
|       | OH4S           | OJH2           | H4J2        | 10                    |      |                 |
|       | OH4S           | OJH3           | H4J3        | 60                    |      |                 |
|       | OH4S           | OJH4           | H4J4        | 20                    |      |                 |
| H5    | OH5S           | OJH1           | H5J1        | 10                    | PH5  | 2               |
|       | OH5S           | OJH2           | H5J2        | 10                    |      |                 |
|       | OH5S           | OJH3           | H5J3        | 60                    |      |                 |
|       | OH5S           | OJH4           | H5J4        | 20                    |      |                 |
| H6    | OH6S           | OJH1           | H6J1        | 10                    | PH6  | 20              |
|       | OH6S           | OJH2           | H6J2        | 10                    |      |                 |
|       | OH6S           | OJH3           | H6J3        | 60                    |      |                 |
|       | OH6S           | OJH4           | H6J4        | 20                    |      |                 |

|    |      |      |      |    |     |      |
|----|------|------|------|----|-----|------|
| H7 | OH7S | OJH1 | H7J1 | 10 | PH7 | 1    |
|    | OH7S | OJH2 | H7J2 | 10 |     |      |
|    | OH7S | OJH3 | H7J3 | 60 |     |      |
|    | OH7S | OJH4 | H7J4 | 20 |     |      |
|    |      |      |      |    | VH  | 100% |

Bảng 5: các đặc tính của các thư viện tế bào B nhớ biểu hiện IgM riêng biệt

| Thư viện tế bào B nhớ biểu hiện IgM |                                  |                   |                                    |                       |          |               |
|-------------------------------------|----------------------------------|-------------------|------------------------------------|-----------------------|----------|---------------|
| Người cho                           | Tế bào                           |                   | Thư viện                           |                       |          |               |
|                                     | tổng<br>PBL<br>( $\times 10^6$ ) | % tế bào<br>B nhớ | Kích<br>thước<br>( $\times 10^6$ ) | % tần<br>suất<br>chèn | %<br>ORF | %<br>duy nhất |
| người thứ 1                         |                                  |                   | 3                                  | 96                    | 74       | 98            |
| người thứ 2                         | 72,5                             | 1,7               | 5                                  | 98                    | 79       | 98            |
| người thứ 3                         | 67,5                             | 1,4               | 3                                  | 96                    | 79       | 98            |
| người thứ 4                         | 132,5                            | 2,3               | 6                                  | 98                    | 69       | 99            |

Bảng 6: Hoạt tính liên kết chéo của kháng thể thể thực khuẩn chuỗi đơn với phân tử HA của các typ phụ HA khác nhau như được đánh giá bằng thử nghiệm ELISA (hiệu giá ELISA; OD 492nm). X= không được xác định; H3= HA của typ phụ H3; H7= HA của typ phụ H7; HB= HA của virus cúm B.

| SC #     | H3    | H7    | HB |
|----------|-------|-------|----|
| sc08-001 | 0,885 | 2,451 | x  |
| sc08-003 | 1,320 | 0,222 | x  |
| sc08-006 | 0,511 | 0,227 | x  |
| sc08-007 | 0,074 | 2,365 | x  |
| sc08-009 | 0,095 | 1,130 | x  |

|          |       |       |   |
|----------|-------|-------|---|
| sc08-010 | 0,165 | 1,242 | x |
| sc08-011 | 0,090 | 1,802 | x |
| sc08-013 | 0,078 | 1,400 | x |
| sc08-014 | 0,239 | 0,834 | x |
| sc08-015 | 0,727 | 0,165 | x |
| sc08-016 | 1,112 | 0,164 | x |
| sc08-017 | 1,158 | 0,285 | x |
| sc08-018 | 0,711 | 0,221 | x |

Bảng 7: Hoạt tính liên kết chéo của kháng thể thể thực khuẩn được lọc vô trùng và kết tủa bằng PEG/NACl với phân tử HA của các typ phụ HA khác nhau như được đánh giá bằng thử nghiệm ELISA (OD 492nm). H1= HA của typ phụ H1, H3= HA của typ phụ H3; H5=HA của typ phụ H5; H7= HA của typ phụ H7; B(O)= HA của virut cúm B/Ohio/01/2005.

| SC #     | H1 | H3 | H5 | H7 | B(O) |
|----------|----|----|----|----|------|
| sc08-001 | +  | +  | -  | +  | -    |
| sc08-003 | -  | +  | -  | -  | -    |
| sc08-006 | -  | +  | -  | -  | -    |
| sc08-007 | -  | -  | -  | +  | -    |
| sc08-009 | -  | -  | -  | +  | -    |
| sc08-010 | -  | -  | -  | +  | -    |
| sc08-011 | -  | -  | -  | +  | -    |
| sc08-013 | -  | -  | -  | +  | -    |
| sc08-014 | +  | +  | -  | +  | -    |
| sc08-015 | -  | +  | -  | -  | -    |
| sc08-016 | -  | +  | -  | -  | -    |
| sc08-017 | -  | +  | -  | -  | -    |
| sc08-018 | -  | +  | -  | -  | -    |

Bảng 8: Phân tích FACS của kháng thể thể thực khuẩn được lọc vô trùng và kết tủa bằng PEG/NACl (được thể hiện ở dạng cường độ huỳnh quang trung bình (mean fluorescence intensity: MFI). PER.C6=tế bào PER.C6 không chuyển nhiễm (đối chứng); mH1, mH3, mH5, mH7, mHB= HA của các typ phụ H1, H3, H5, H7 và các typ phụ của virus cúm B tương ứng liên kết với màng tế bào.

| SC #     | PER.C6 | mH1 | mH3 | mH5 | mH7 | mHB |
|----------|--------|-----|-----|-----|-----|-----|
| sc08-001 | 2      | 27  | 68  | 5   | 62  | x   |
| sc08-003 | 5      | 9   | 77  | 7   | 7   | x   |
| sc08-006 | 2      | 6   | 69  | 5   | 6   | x   |
| sc08-007 | 1      | 5   | 4   | 4   | 73  | x   |
| sc08-009 | 11     | 12  | 11  | 10  | 15  | x   |
| sc08-010 | 2      | 4   | 3   | 4   | 60  | x   |
| sc08-011 | 1      | 3   | 4   | 4   | 73  | x   |
| sc08-013 | 2      | 5   | 3   | 7   | 61  | x   |
| sc08-014 | 10     | 26  | 82  | 17  | 32  | x   |
| sc08-015 | 3      | 7   | 79  | 7   | 6   | x   |
| sc08-016 | 1      | 7   | 82  | 5   | 5   | x   |
| sc08-017 | 1      | 6   | 81  | 5   | 5   | x   |
| sc08-018 | 2      | 6   | 74  | 6   | 7   | x   |

Bảng 9: Dữ liệu về các vùng CDR của globulin miễn dịch đặc hiệu với HA (SEQ ID NO).

| IgG#   | Locut<br>Vh | HCDR1         | HCDR2                      | HCDR3                         | LocutV<br>l | LCDR1                      | LCDR2           | LCDR3                 |
|--------|-------------|---------------|----------------------------|-------------------------------|-------------|----------------------------|-----------------|-----------------------|
| CR8001 | 3-53        | SNYVS<br>(81) | LIYTGGTTYA<br>DSVKG (82)   | VSALRFLQ<br>WPNYAMD<br>V (83) | 1-4         | SGTRSDV<br>GGHNYVS<br>(84) | EVSHRPS<br>(85) | SSYTGEGLG<br>V (86)   |
| CR8003 | 3-7         | SYWMS<br>(87) | NMKQDGSEKY<br>YVDSVKG (88) | GSCDDSWT<br>GCHDAFDI<br>(89)  | 2-14        | GGNNIGS<br>KSVH (90)       | DSARPS (91)     | QVWESGSDLR<br>LL (92) |

|        |      |                   |                             |                                     |      |                                    |                  |                       |
|--------|------|-------------------|-----------------------------|-------------------------------------|------|------------------------------------|------------------|-----------------------|
| CR8015 | 3-7  | SYWMS<br>(87)     | NMKQDGSEKY<br>YVDSVKG (88)  | GSCDDSWT<br>GCHDAFDI<br>(89)        | 2-14 | GGDNIGR<br>KSVH (93)               | DNSDRPS<br>(94)  | HVWGSSRDH<br>YV (95)  |
| CR8016 | 3-7  | SYWMS<br>(87)     | NMKQDGSEKY<br>YVDSVKG (88)  | GSCDDSWT<br>GCHDAFDI<br>(89)        | 1-13 | TGSSSNIG<br>AGYDVH<br>(96)         | GNN<br>(97)RPS   | QSYDSSLVY<br>V (98)   |
| CR8017 | 3-7  | SYWMS<br>(87)     | NMKQDGSEKY<br>YVDSVKG (88)  | GSCDDSWT<br>GCHDAFDI<br>(89)        | 2-13 | QGDSLRS<br>YYAS (99)               | AKTNRPS<br>(100) | NSRDSSGNHV<br>V (101) |
| CR8018 | 3-7  | SYWMS<br>(87)     | NMKQDGSEKY<br>YVDSVKG (88)  | GSCDDSWT<br>GCHDAFDI<br>(89)        | 1-4  | TGTSSDV<br>GGYNYVS<br>(102)        | EVSHRPS<br>(85)  | SSYTGEPLG<br>V (86)   |
| CR8019 | 3-23 | TSAMS<br>(103)    | GISGSGATTYY<br>AGSVKG (104) | DTSLEFYD<br>TSGFTAPG<br>NAFDI (105) | O12  | RASQSISG<br>YLN (106)              | GASTLQS<br>(107) | QQTYSPPYA<br>(108)    |
| CR8020 | 1-18 | RFGVS<br>(109)    | WISAYNGDTYY<br>AQKFQA (110) | EPPLFYSSW<br>SLDN (111)             | A27  | ARASQSV<br>SMNYLA<br>(112)         | GASRRAT<br>(113) | QQYGTSPRT<br>(114)    |
| CR8021 | 3-23 | AYAMN<br>(115)    | AIGGSGGSTYY<br>ADSVKG (116) | GRDWTGG<br>YFFDS (117)              | B3   | KSSQSIFY<br>SSNNKNY<br>LT (118)    | WASTRES<br>(119) | QQYYSIPYT<br>(120)    |
| CR8038 | 3-23 | GYAMS<br>(121)    | DIGGSGGGTYY<br>ADSVKG (122) | SSSWDRAY<br>FFDS (123)              | B3   | KSSQSVL<br>YSSIHKN<br>YLA<br>(124) | WASTRES<br>(119) | QQYYRSPPT<br>(125)    |
| CR8039 | 4-59 | SYWWS<br>(126)    | YIYYRGGTSYN<br>PSLKS (127)  | KDWGSAA<br>GSVWYFDL<br>(128)        | 1-2  | TGTSSDV<br>GGYNYVS<br>(129)        | EVSKRPS<br>(130) | SSYAGSNNLI<br>(131)   |
| CR8040 | 3-33 | SYGMH<br>(132)    | FIWYDGSNKHY<br>ADSMKG (133) | DGGYSTWE<br>WYFDL<br>(134)          | A26  | RASQGIGS<br>NLH (135)              | YASQSIT<br>(136) | HQSSSLPLT<br>(137)    |
| CR8041 | 1-18 | SFGLS<br>(138)    | WISAYNGEIKY<br>AQKFQG (139) | EPPLYFSSW<br>SLDF (140)             | A27  | ARASQSV<br>SSNYLA<br>(141)         | GASRRAT<br>(142) | QQYDSSPRT<br>(143)    |
| CR8043 | 1-03 | AYSMH<br>(144)    | WINTAIGNTQY<br>SQKFQD (145) | GASWDAR<br>GWSGY<br>(146)           | B3   | KSSQSVFS<br>SSTNKNY<br>LA (147)    | WSSTRES<br>(148) | HQYYTAPWT<br>(149)    |
| CR8049 | 2-26 | NTRMGV<br>S (150) | HIFSNDETSYRT<br>SLKR (151)  | IGSGYESSA<br>YSTWLDP<br>(152)       | 2-14 | EGDTIGSK<br>SVH (153)              | NDRDRPS<br>(154) | QVWESGGDQ<br>TV (155) |
| CR8050 | 4-34 | DHYWS<br>(156)    | EVVHSGDTNYT<br>PSLRN (157)  | GRNVAVV<br>GAIQRHYD<br>Y (158)      | A27  | RASQSVS<br>RNYLA<br>(159)          | GASSRAT<br>(160) | QHYGSVLV<br>A (161)   |

|        |      |                   |                             |                                       |      |                             |                  |                       |
|--------|------|-------------------|-----------------------------|---------------------------------------|------|-----------------------------|------------------|-----------------------|
| CR8052 | 4-61 | SGTYYW<br>S (162) | DISYSGSTNYNP<br>SLKS (163)  | AMAAANY<br>DRGGYND<br>YYYMDV<br>(164) | O12  | RASQGIN<br>TYLN<br>(165)    | AATLQS<br>(166)  | QQSYSTAIT<br>(167)    |
| CR8055 | 3-33 | TYGMH<br>(168)    | FIWYDGSNKHY<br>QDSVKG (169) | DGGYSTWE<br>WYFDL<br>(170)            | A26  | RASRSIGS<br>DLH (171)       | FASQSMS<br>(172) | HQSSSLPLT<br>(137)    |
| CR8057 | 3-53 | VIFMS<br>(173)    | IYYIDSTYYAD<br>SVKG (174)   | ESGDFGDQ<br>TGPYHYA<br>MDV (175)      | 2-14 | TGSSGDIG<br>GYNAVS<br>(176) | EVTSRPS<br>(177) | CSFADSNILI<br>(178)   |
| CR8069 | 3-43 | DYTMH<br>(179)    | LISWDGGMSNY<br>ADSVKG (180) | DIRPRMPA<br>RHFMDV<br>(181)           | L2   | RASQNVN<br>YNLA<br>(182)    | VASTRAT<br>(183) | QQYNNWPP<br>AIT (184) |

Bảng 10. Dữ liệu của IgG đặc hiệu HA. SEQ ID NO của trình tự nucleotit và axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ

| Tên IgG | SEQ ID NO của trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng | SEQ ID NO của trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng | SEQ ID NO của trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ | SEQ ID NO của trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ |
|---------|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| CR8001  | 1                                                             | 2                                                             | 3                                                            | 4                                                            |
| CR8003  | 5                                                             | 6                                                             | 7                                                            | 8                                                            |
| CR8015  | 9                                                             | 10                                                            | 11                                                           | 12                                                           |
| CR8016  | 13                                                            | 14                                                            | 15                                                           | 16                                                           |
| CR8017  | 17                                                            | 18                                                            | 19                                                           | 20                                                           |
| CR8018  | 21                                                            | 22                                                            | 23                                                           | 24                                                           |
| CR8019  | 25                                                            | 26                                                            | 27                                                           | 28                                                           |
| CR8020  | 29                                                            | 30                                                            | 31                                                           | 32                                                           |
| CR8021  | 33                                                            | 34                                                            | 35                                                           | 36                                                           |

|        |    |    |    |    |
|--------|----|----|----|----|
|        |    |    |    |    |
| CR8038 | 37 | 38 | 39 | 40 |
| CR8039 | 41 | 42 | 43 | 44 |
| CR8040 | 45 | 46 | 47 | 48 |
| CR8041 | 49 | 50 | 51 | 52 |
| CR8043 | 53 | 54 | 55 | 56 |
| CR8049 | 57 | 58 | 59 | 60 |
| CR8050 | 61 | 62 | 63 | 64 |
| CR8052 | 65 | 66 | 67 | 68 |
| CR8055 | 69 | 70 | 71 | 72 |
| CR8057 | 73 | 74 | 75 | 76 |
| CR8069 | 77 | 78 | 79 | 80 |

Bảng 11: Trung hòa virus cúm H3N2 in vitro bằng IgG đã chọn

| Hiệu giá trung hòa SK50 (µg/ml) |                     |
|---------------------------------|---------------------|
| IgG #                           | A/Wisconsin/67/2005 |
| CR8001                          | 11,95               |
| CR8003                          | 5,31                |
| CR8015                          | 23,78               |
| CR8016                          | 1,77                |
| CR8017                          | 2,82                |
| CR8018                          | 6,03                |

|        |       |
|--------|-------|
| CR8019 | 1,98  |
| CR8020 | 8,45  |
| CR8021 | 1,77  |
| CR8038 | 3,54  |
| CR8039 | 1,8   |
| CR8040 | >40   |
| CR8041 | 3,99  |
| CR8043 | 1,49  |
| CR8049 | 3,26  |
| CR8050 | 1,77  |
| CR8052 | >40   |
| CR8055 | 1,07  |
| CR8057 | 0,011 |
| CR8069 | ND    |

Bảng 12: Khả năng phản ứng liên kết chéo của IgG kháng H3N2.  
 NCal.=A/New Caledonia/20/1999 (H1N1); Wisc.=A/Wisconsin/67/2005 (H3N2); NY.=A/New York/55/2004 (H3N2), Wyo.=A/Wyoming/3/2003 (H3N2); Neth.=A/Netherlands/219/2003 (H7N7); ND=không được xác định

| IgG #  | Liên kết IgG Elisa (chuẩn độ) |            |          |           |            | Liên kết Facs, [IgG]=5µg/ml, MFI |     |     |     |
|--------|-------------------------------|------------|----------|-----------|------------|----------------------------------|-----|-----|-----|
|        | H1<br>NCal.                   | H3<br>Wisc | H3<br>NY | H3<br>Wyo | H7<br>Neth | PerC6                            | H1  | H3  | H7  |
| CR8001 | +                             | +          | +        | +         | +          | 4                                | 100 | 763 | 106 |
| CR8003 | -                             | +          | +        | +         | -          | 3                                | 3   | 657 | 5   |
| CR8015 | -                             | +          | +        | +         | -          | 3                                | 4   | 600 | 4   |
| CR8016 | -                             | +          | +        | +         | -          | 3                                | 3   | 840 | 5   |
| CR8017 | -                             | +          | +        | +         | -          | 3                                | 3   | 558 | 4   |

|        |   |   |   |   |      |    |    |     |     |
|--------|---|---|---|---|------|----|----|-----|-----|
| CR8018 | - | + | + | + | -    | 3  | 3  | 348 | 4   |
| CR8019 | - | + | - | + | -    | 3  | 4  | 685 | 6   |
| CR8020 | - | + | + | + | +    | 4  | 3  | 657 | 140 |
| CR8021 | - | + | + | + | +    | 4  | 4  | 678 | 4   |
| CR8038 | - | + | + | + | -    | ND | ND | ND  | ND  |
| CR8039 | - | + | + | + | -    | 4  | 4  | 503 | 4   |
| CR8040 | - | + | + | + | -    | 4  | 5  | 446 | 4   |
| CR8041 | - | + | + | + | +    | 4  | 4  | 364 | 120 |
| CR8043 | - | + | + | + | +    | 4  | 4  | 646 | 11  |
| CR8049 | - | + | + | + | -    | 3  | 3  | 542 | 4   |
| CR8050 | - | + | + | + | -    | 6  | 8  | 282 | 6   |
| CR8052 | - | + | + | + | -    | 4  | 4  | 364 | 5   |
| CR8055 | - | - | - | - | -    | 21 | 31 | 433 | 26  |
| CR8057 | - | + | + | + | thấp | 7  | 8  | 943 | 15  |
| CR8069 | - | + | + | + | -    | 4  | 6  | 447 | 5   |

Bảng 13: Hoạt tính trung hòa chéo của các IgG kháng H3N2; ND=không xác định

| Hiệu giá trung hòa SK50 (µg/ml) |                         |                    |                           |                     |                     |                    |                         |                    |                               |                      |
|---------------------------------|-------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------------|----------------------|
| IgG #                           | H1                      |                    |                           | H3                  |                     |                    |                         |                    | H7                            | H10                  |
|                                 | A/New Caledonia/20/1999 | A/Brisbane/59/1007 | A/Solomon islands/IVR-145 | A/Wisconsin/67/2005 | A/Hiroshima/52/2005 | A/Panama/2000/1999 | A/Johannesburg/33/1994* | A/Hong Kong/1/1968 | A/Mallard/Netherlands/12/2000 | A/Chick/Germany/N/49 |
| CR8001                          | >40                     | >40                | >40                       | 11,95               | 13,02               | >40                | 6,51                    | 7,07               | >40                           | >40                  |
| CR8003                          | >40                     | >40                | >40                       | 5,31                | 4,27                | >40                | >40                     | ND                 | >40                           | >40                  |
| CR8015                          | >40                     | >40                | >40                       | 23,78               | 28,28               | >40                | >40                     | ND                 | >40                           | >40                  |
| CR8016                          | >40                     | >40                | >40                       | 1,77                | 8,84                | 28,28              | >40                     | ND                 | >40                           | >40                  |
| CR8017                          | >40                     | >40                | >40                       | 2,82                | 13,55               | >40                | >40                     | ND                 | >40                           | >40                  |
| CR8018                          | >40                     | >40                | >40                       | 6,03                | 8,45                | >40                | >40                     | ND                 | >40                           | >40                  |
| CR8019                          | >40                     | >40                | >40                       | 1,98                | 0,88                | >40                | 0,88                    | ND                 | >40                           | >40                  |
| CR8020                          | >40                     | >40                | >40                       | 8,45                | 11,95               | 7,74               | 7,07                    | 1,77               | 0,028                         | 17,68                |
| CR8021                          | ND                      | >40                | >40                       | 1,77                | 2,5                 | >40                | 3,54                    | 14,14              | >40                           | >40                  |
| CR8038                          | ND                      | ND                 | ND                        | 3,54                | 7,07                | >40                | 5,95                    | ND                 | >40                           | >40                  |
| CR8039                          | >40                     | >40                | >40                       | 1,8                 | 3,26                | 4,6                | 1,33                    | 2,97               | >40                           | >40                  |
| CR8040                          | >40                     | >40                | >40                       | >40                 | >40                 | >40                | 6,77                    | ND                 | >40                           | >40                  |
| CR8041                          | >40                     | >40                | >40                       | 3,99                | 4,75                | 2,99               | 1,69                    | 1,05               | 1,105                         | 25                   |
| CR8043                          | >40                     | >40                | >40                       | 1,49                | 3,54                | 10,15              | 2,66                    | 4,2                | >40                           | 14,87                |
| CR8049                          | >40                     | >40                | >40                       | 3,26                | 3,54                | >40                | >40                     | ND                 | >40                           | >40                  |
| CR8050                          | ND                      | ND                 | ND                        | 1,77                | ND                  | 6,5                | 1,49                    | ND                 | >40                           | >40                  |

|        |     |     |     |       |        |       |      |       |     |     |
|--------|-----|-----|-----|-------|--------|-------|------|-------|-----|-----|
| CR8052 | >40 | >40 | >40 | >40   | >40    | 21,89 | >40  | ND    | >40 | >40 |
| CR8055 | >40 | >40 | >40 | 1,07  | 1,15   | >40   | 3,38 | ND    | >40 | >40 |
| CR8057 | >40 | >40 | >40 | 0,011 | 0,0068 | 0,022 | 2,17 | 2,17  | >40 | >40 |
| CR8069 | >40 | >40 | >40 | ND    | 3,54   | 11,89 | 3,54 | 11,89 | >40 | >40 |

Bảng 14: Sự bảo toàn trình tự quanh vùng liên kết của các mAb H3  
CR8020, CR8041 và CR8043

| Trình tự liên ứng | vị trí HA2 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | N | Năm | Chủng thử nghiệm |    |    |    |     |           |             |
|-------------------|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|-----|------------------|----|----|----|-----|-----------|-------------|
|                   | 14         | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 |   |     |                  | 34 | 35 | 36 | 37  | 38        | 39          |
| Nhóm_1            | W          | E  | G  | M  | V  | D  | G  | W  | Y  | G  | F  | R  | H  | Q  | N  | S  | E  | G  | T  | G  | Q | A   | A                | D  | L  | K  | 655 | 1972-2008 | Pa<br>Hs-Wi |
| Nhóm_2            | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | I  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 380 | 2004-2008 |             |
| Nhóm_3            | .          | .  | .  | .  | M  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | R  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 127 | 1999-2004 | HK          |
| Nhóm_4            | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 91  | 2007-2009 |             |
| Nhóm_5            | .          | .  | .  | .  | I  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 69  | 1968-1997 |             |
| Nhóm_6            | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | M  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 10  | 2007      |             |
| Nhóm_7            | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | L  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 6   | 1999-2004 |             |
| Nhóm_8            | .          | .  | .  | .  | M  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | I  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 4   | 2002-2007 |             |
| Nhóm_9            | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | A  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 3   | 2004      |             |
| Nhóm_10           | .          | .  | .  | .  | K  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 3   | 1999      |             |
| Nhóm_11           | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | R  | .  | . | .   | .                | F  | .  | .  | 2   | 2009      |             |
| Nhóm_12           | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | Y  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 2   | 2003-2004 |             |
| Nhóm_13           | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | I  | .  | . | .   | .                | F  | .  | .  | 1   | 2006      |             |
| Nhóm_14           | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | V  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 1   | 2007      |             |
| Nhóm_15           | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | X  | .  | .  | I  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 1   | 2007      |             |
| Nhóm_16           | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | Y  | .  | .  | R  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 1   | 2008      |             |
| Nhóm_17           | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | N  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 1   | 2003      |             |
| Nhóm_18           | .          | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | C  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 1   | 2001      |             |
| Nhóm_19           | .          | .  | .  | .  | .  | N  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 1   | 1999      |             |
| Nhóm_20           | .          | .  | .  | .  | I  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | R  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 1   | 1975      |             |
| Nhóm_21           | .          | .  | .  | .  | M  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | R  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 1   | 2008      |             |
| Nhóm_22           | .          | .  | .  | .  | M  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 1   | 2002      |             |
| Nhóm_23           | .          | K  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | R  | .  | .  | .  | .  | H  | .  | .  | .  | .  | .  | .  | . | .   | .                | .  | .  | .  | 1   | 2002      |             |

Bảng 15: Hiệu giá trung hòa đối với các chủng virus cúm A khác nhau

| IgG#   | H1                         | H3                  |                     |                    |                        |                    |                |                 | H7              |                       | H10  |
|--------|----------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|------------------------|--------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------------|------|
|        | 3 H1N1 strains (1999-2007) | A/Wisconsin/67/2005 | A/Hiroshima/52/2005 | A/Panama/2000/1999 | A/Johannesburg/23/1994 | A/Hong Kong/1/1968 | A/HK/1/68-H2N0 | A/HK/1/68-H2N0C | A/Melind/1/1968 | A/Chick/Germany/10/99 |      |
| CR8001 | >40                        | 11,9                | 13,0                | >40                | 6,5                    | 7,1                | 5,26           | tbd             | >40             | 39,8                  | >40  |
| CR8020 | >40                        | 3,5                 | 3,5                 | 5,0                | 2,0                    | 1,8                | 1,8            | 1,8             | 2,5             | 27,6                  | 6,6  |
| CR8041 | >40                        | 3,3                 | 3,5                 | 5,0                | 1,6                    | 1,7                | 1,8            | 1,7             | 38,0            | 258,0                 | 37,2 |
| CR8043 | >40                        | 1,6                 | 1,8                 | 4,2                | 1,2                    | 0,8                | 1,8            | 1,2             | >40             | >40                   | 6,6  |
| CR8057 | >40                        | 0,005               | 0,003               | 0,01               | >40                    | >40                | >40            | >40             | >40             | -                     | >250 |

Tất cả các hiệu giá SK50 tính theo đơn vị ug/ml; các chủng đã được thích nghi ở chuột; chủng Ma ‘đại dịch’ H7.

Bảng 16. Diện tích dưới đường cong trung bình thể hiện sự thay đổi thể trọng so với mức cơ bản vào ngày 0

| Thử nghiệm | Nhóm              | AUC trung bình (g*ngày) | SD (g*ngày) | Giá trị p <sup>a</sup> (mAb so với đối chứng) | Giá trị p <sup>b</sup>    |
|------------|-------------------|-------------------------|-------------|-----------------------------------------------|---------------------------|
| 1          | 30mg/kg đối chứng | -82,86                  | 14,15       |                                               |                           |
|            |                   |                         |             |                                               |                           |
|            | 1mg/kg CR8020     | -63,21                  | 30,91       | 0,09                                          |                           |
|            | 3mg/kg CR8020     | 16,95                   | 8,20        | <0,001                                        | <0,001 (1 so với 3mg/kg)  |
|            | 10mg/kg CR8020    | 31,44                   | 9,09        | <0,001                                        | 0,454 (3 so với 10mg/kg)  |
|            | 30mg/kg CR8020    | 25,62                   | 12,94       | <0,001                                        | ns                        |
| 2          | 30mg/kg đối chứng | -86,51                  | 8,83        |                                               |                           |
|            |                   |                         |             |                                               |                           |
|            | 1mg/kg CR8041     | -68,26                  | 11,41       | 0,004                                         |                           |
|            | 3mg/kg CR8041     | 19,51                   | 13,82       | <0,001                                        | <0,001 (1 so với 3mg/kg)  |
|            | 10mg/kg CR8041    | 35,23                   | 11,06       | <0,001                                        | 0,061 (3 so với 10mg/kg)  |
|            | 30mg/kg CR8041    | 28,21                   | 7,89        | <0,001                                        | Ns                        |
|            |                   |                         |             |                                               |                           |
|            | 1mg/kg CR8043     | -66,19                  | 8,74        | <0,001                                        |                           |
|            | 3mg/kg CR8043     | 8,48                    | 11,81       | <0,001                                        | <0,001 (1 so với 3mg/kg)  |
|            | 10mg/kg CR8043    | 31,57                   | 7,90        | <0,001                                        | <0,001 (3 so với 10mg/kg) |
|            | 30mg/kg CR8043    | 27,72                   | 6,61        | <0,001                                        | 0,997 (10 so với 30mg/kg) |

<sup>a</sup>Giá trị AUC trung bình của các nhóm sử dụng mAb được so sánh với nhóm sử dụng Ab đối chứng bằng cách phân tích phương sai có điều chỉnh Dunnet để so sánh nhiều nhóm.

<sup>b</sup>Giá trị AUC trung bình của mỗi nồng độ kháng thể được so sánh đối với mỗi kháng thể bằng cách phân tích phương sai có điều chỉnh Tukey để so sánh nhiều nhóm.

ns= không có ý nghĩa thống kê

Bảng 17. Diện tích dưới đường cong trung bình thể hiện sự thay đổi thể trọng so với mức cơ bản vào ngày 0

| Nhóm                         | AUC trung bình<br>(g*ngày) | SD<br>(g*ngày) | Giá trị<br>p <sup>a</sup> |
|------------------------------|----------------------------|----------------|---------------------------|
| 15mg/kg CR8020 vào<br>ngày 1 | 33,44                      | 10,06          | <0,001                    |
| 15mg/kg CR8020 vào<br>ngày 1 | 10,70                      | 16,23          | <0,001                    |
| 15mg/kg CR8020 vào<br>ngày 2 | -15,23                     | 11,60          | <0,001                    |
| 15mg/kg CR8020 vào<br>ngày 3 | -65,45                     | 35,90          | 0,003                     |
| 15mg/kg CR8020 vào<br>ngày 4 | -85,95                     | 23,14          | 0,742                     |
| 15mg/kg CR8020 vào<br>ngày 5 | -100,88                    | 12,78          | 0,986                     |
| 15mg/kg CR8020 vào<br>ngày 6 | -84,91                     | 12,28          | 0,653                     |
| mAb đối chứng vào<br>ngày 1  | -95,76                     | 11,55          |                           |

<sup>a</sup>Giá trị AUC trung bình của nhóm sử dụng liều 15mg/kg mAb CR8020 được so sánh với nhóm sử dụng mAb đối chứng bằng cách phân tích phương sai có điều chỉnh Dunnett để so sánh nhiều nhóm trong phân tích hậu kiểm. Việc điều trị dự phòng bằng 15mg/kg mAb CR8020 dẫn đến sự giảm có ý nghĩa thống kê của mức giảm thể trọng so với nhóm đối chứng ( $p < 0,001$ ). Việc điều trị vào ngày 1, ngày 2 hoặc ngày 3 bằng 15mg/kg mAb CR8020 cũng dẫn đến sự giảm có ý

nghĩa thống kê của mức giảm thể trọng so với nhóm đối chứng ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$  và  $p = 0,003$  tương ứng). Việc điều trị vào ngày 4, ngày 5 hoặc ngày 6 bằng 15mg/kg mAb CR8020 không làm giảm có ý nghĩa thống kê mức giảm thể trọng so với nhóm đối chứng ( $p > 0,05$  đối với cả ba nhóm).

Bảng 18. Điểm số lâm sàng trung bình

Khoảng thời gian có sự chênh lệch đáng kể giữa các điểm số lâm sàng so với nhóm mAb đối chứng được đưa ra (ví dụ giữa nhóm sử dụng 15mg/kg vào ngày -1 và nhóm đối chứng, sự chênh lệch về điểm số lâm sàng là đáng kể từ ngày 4 trở đi).

|                            | So với nhóm đối chứng   |              |
|----------------------------|-------------------------|--------------|
| Nhóm                       | Khoảng thời gian (ngày) | p            |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày -1 | 4-21                    | $\leq 0,001$ |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 1  | 2-21                    | $\leq 0,001$ |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 2  | 3, 5-21                 | $\leq 0,001$ |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 3  | 3, 5-21                 | $\leq 0,012$ |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 4  | 3, 5-21                 | $\leq 0,034$ |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 5  | 3                       | $\leq 0,001$ |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 6  | 3                       | $\leq 0,001$ |

Bảng 19. Diện tích dưới đường cong trung bình thể hiện sự thay đổi thể trọng so với mức cơ bản vào ngày 0.

| Nhóm              | AUC trung bình (g*ngày) | SD (g*ngày) | Giá trị p <sup>a</sup><br>(mAb CR8020 so với đối chứng) |
|-------------------|-------------------------|-------------|---------------------------------------------------------|
| 30mg/kg đối chứng | -93,06                  | 10,88       |                                                         |
| 1mg/kg CR8020     | -45,61                  | 15,05       | <0,001                                                  |
| 3mg/kg CR8020     | -13,31                  | 9,51        | <0,001                                                  |
| 10mg/kg CR8020    | -6,35                   | 12,40       | <0,001                                                  |
| 30mg/kg CR8020    | -12,59                  | 7,35        | <0,001                                                  |

<sup>a</sup>Giá trị AUC trung bình của nhóm dùng sử dụng mAb CR8020 được so sánh với nhóm sử dụng mAb đối chứng bằng cách phân tích phương sai có điều chỉnh Dunnet để so sánh nhiều nhóm trong phân tích hậu kiểm.

Bảng 20: Tóm tắt các đặc tính liên kết và trung hòa của các kháng thể đơn dòng đặc hiệu với HA của virus cúm.

|        | H1       | H3  |          |     |
|--------|----------|-----|----------|-----|
|        | Liên kết | VNA | Liên kết | VNA |
| CR6261 | +        | +   | -        | -   |
| CR6323 | +        | +   | -        | -   |
| CR8001 | +        | -   | +        | +   |
| CR8020 | -        | -   | +        | +   |

|        |   |   |   |   |
|--------|---|---|---|---|
| CR8041 | - | - | + | + |
| CR8043 | - | - | + | + |

Bảng 21. Diện tích dưới đường cong trung bình thể hiện sự thay đổi thể trọng so với mức cơ bản vào ngày 0

| Nhóm              | AUC trung bình<br>(g*ngày) | SD (g*ngày) | Giá trị p (mAb so<br>với đối chứng) <sup>a</sup> |
|-------------------|----------------------------|-------------|--------------------------------------------------|
| 30mg/kg đối chứng | -101,38                    | 11,67       |                                                  |
| 1mg/kg CR8020     | -82,58                     | 34,71       | 0,356                                            |
| 3mg/kg CR8020     | -5,70                      | 23,97       | <0,001                                           |
| 10mg/kg CR8020    | 2,13                       | 13,13       | <0,001                                           |
| 1mg/kg CR8041     | -105,05                    | 17,04       | 1                                                |
| 3mg/kg CR8041     | -32,22                     | 30,87       | <0,001                                           |
| 10mg/kg CR8041    | -20,06                     | 17,92       | <0,001                                           |
| 30mg/kg CR8041    | -10,01                     | 10,11       | <0,001                                           |
| 1mg/kg CR8043     | -107,75                    | 11,04       | 0,997                                            |
| 3mg/kg CR8043     | -117,88                    | 5,91        | 0,510                                            |
| 10mg/kg CR8043    | -94,00                     | 23,23       | 0,992                                            |
| 30mg/kg CR8043    | -56,82                     | 17,55       | <0,001                                           |

<sup>a</sup>Giá trị AUC trung bình của nhóm sử dụng liều mAb CR8020 được so sánh với nhóm sử dụng mAb đối chứng bằng cách phân tích phương sai có điều chỉnh Dunnet để so sánh nhiều nhóm trong phân tích hậu kiểm.

Bảng 22. Diện tích dưới đường cong trung bình thể hiện sự thay đổi thể trọng so với mức cơ bản vào ngày 0

| Nhóm                           | AUC trung bình (g*ngày) | SD (g*ngày) | Giá trị p (mAb so với đối chứng) <sup>a</sup> |
|--------------------------------|-------------------------|-------------|-----------------------------------------------|
| 15mg/kg CR8020 vào ngày -1     | -7,68                   | 8,17        | < 0,001                                       |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 1      | -20,43                  | 8,41        | < 0,001                                       |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 2      | -38,18                  | 37,35       | < 0,001                                       |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 3      | -28,27                  | 9,63        | < 0,001                                       |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 4      | -99,11                  | 37,90       | 0,566                                         |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 5      | -93,62                  | 10,29       | 0,979                                         |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 6      | -94,06                  | 7,65        | 0,858                                         |
|                                |                         |             |                                               |
| Kháng thể đối chứng vào ngày 1 | -93,33                  | 10,58       |                                               |

<sup>a</sup>Giá trị AUC trung bình được so sánh bằng quy trình RobustReg (SAS) định rõ thể trọng thấp hơn so với các đối tượng nằm ngoài.

Bảng 23. Điểm số lâm sàng trung bình

|                            | So với đối chứng        |              |
|----------------------------|-------------------------|--------------|
| Nhóm                       | Khoảng thời gian (ngày) | p            |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày -1 | 4-21                    | $\leq 0,001$ |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 1  | 2, 5-21                 | $\leq 0,012$ |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 2  | 6-21                    | $\leq 0,038$ |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 3  | 7-21                    | $\leq 0,035$ |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 4  | 5, 6, 8-21              | $\leq 0,016$ |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 5  | 8                       | $< 0,001$    |
| 15mg/kg CR8020 vào ngày 6  | -                       | $\geq 0,449$ |

Bảng 24. Động học quá trình liên kết

**A/Wisconsin**

| Fab     | kon (1/Ms) | Kdis (1/s) | KD (nM) |
|---------|------------|------------|---------|
| CRF8020 | 2,03E+05   | 2,08E-03   | 11,2    |
| CRF8043 | 4,08E+05   | 9,86E-05   | 0,3     |

**A/Brisbane**

| Fab     | kon (1/Ms) | Kdis (1/s) | KD (nM) |
|---------|------------|------------|---------|
| CRF8020 | 1,81E+05   | 1,43E-03   | 8,9     |
| CRF8043 | 3,12E+05   | 8,69E-05   | 0,3     |

Trình tự nucleotit và axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng:

>ADN VH SC08-001 (SEQ ID NO: 1)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCCTGATCCAGCCGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC  
TCTGGATTACCGTCACTAGCAACTACGTGAGCTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGCTC  
TCACTTATTTACACGGGTGGTACCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGAC  
AACTCCAAGAATACGGTGTCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACGCGGCCATGTATTACTGTGCG  
AGAGTGTGAGCATTACGGTTTTTGCAGTGGCCAAACTACGCGATGGACGTC

>PROTEIN VH SC08-001 (SEQ ID NO: 2)

EVQLVESGGGLIQPGSLRLSCAASGFTVSSNYVSWVRQAPGKGLEWLSLIYTGTTYADSVKGRFTISR  
NSKNTVFLQMNSLRATEDAAMYICARVSALRFLQWPNYAMDV

>ADN VL SC08-001 (SEQ ID NO: 3)

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACGGTCGATCACCATCTCCTGCTCTGGA  
ACCCGCAGTGACGTTGGTGGTCATAATTATGTCTCCTGGTACCAACAACCCAGGCAAAGCCCCCAAAC  
ATGATTTATGAGGTCAGTCATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAGCACG  
GCCTCCCTGACCATCTCTGGCCTCCAGTCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCTTATACAGGTGAA  
GGCCCCCTAGGAGTG

>PROTEIN VL SC08-001 (SEQ ID NO: 4)

QSALTQPASVSGSPGRSITISCSGTRSDVGGHNYVSWYQHPGKAPKLMIEVSHRPSGVSNRFGSGKSGST  
ASLTISGLQSEADYYCSSYTGEGLGV

>ADN VH SC08-003 (SEQ ID NO: 5)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACCGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTTTCAGCC  
TCTGAATTCAGCTTCAGTAGTTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTG  
GCCAACATGAAGCAAGATGGAAGTGAGAAGTACTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCAGA  
GACAACGCCAAGAACTCATTATATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGGCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT  
GCGAGGGGTTCTGTGACGATTCTTGGACTGGTTGTGATGCTTTTGACATC

>PROTEIN VH SC08-003 (SEQ ID NO: 6)

EVQLVETGGDLVQPGSLRLSCSASEFSFSSYWMSWVRQAPGKLEWVANMKQDGSEKYYVDSVKGRFTISR  
DNAKNSLYLQMNSLRGEDITAVYYCARGSCDDSWTGCHDAFDI

>ADN VL SC08-003 (SEQ ID NO: 7)

GTGTTGACGCAGCCGCCCTCGGTGTGAGTGGCCCCAGGACAGACGGCCAGGATTGCCTGTGGGGGAAACAAC  
ATTGGGAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCCTGTGCTGGTTCGTCTATGATGAT  
AGCGCCCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAATTCTGGGAACACGGCCACCCTGACCATC  
AGCAGGGTCGAGGCCGGGGATGAAGCCGACTATTACTGTGAGGTGTGGGAGAGTGGTAGTGATCTACGACTG  
CTT

>PROTEIN VL SC08-003 (SEQ ID NO: 8)

VLTQPPSVSVAPGQTARIACGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLLVYDDSDARPŞGIPERFSGSNSGNTATLTII  
SRVEAGDEADYYCQVWESGSDLRLL

>ADN VH SC08-015 (SEQ ID NO: 9)

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTTTCAGCC  
TCTGAATTCAGCTTCAGTAGTTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTG  
GCCAACATGAAGCAAGATGGAAGTGAGAAGTACTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGA  
GACAACGCCAAGAACTCATTATATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGGCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT  
GCGAGGGGTTCTGTGACGATTCTTGGACTGGTTGTCATGATGCTTTTGACATC

>PROTEIN VH SC08-015 (SEQ ID NO: 10)

QVQLQESGGDLVQPGGSLRLSCSASEFSSFYWMSWVRQAPGKGLEWVANMKQDGSEKYYVDSVKGRFTISR  
DNAKNSLYLQMNSLRGEDITAVYYCARGSCDDSWTGCHDAFDI

>ADN VL SC08-015 (SEQ ID NO: 11)

GTGTTGACGCAGCCGCCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGACAGACGGCCAAGATTACCTGTGGGGGAGACAAC  
ATTGGAAGAAAAAGTGTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCTGGCCCCTGTGCTGGTTCGTCAATGATAAT  
AGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGCGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACGGCCACCCTGACCATC  
AGCAGGGTCTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTACGTGTGGGGTAGTAGTCGTGACCATTATGTC

>PROTEIN VL SC08-015 (SEQ ID NO: 12)

VLTQPPSVSVAPGQTAKITCGGDNIGRKSVHWYQQKPGLAPVLVVNDNSDRPSGIPARFSGSNSGNTATLTI  
SRVEAGDEADYYCHVWGSSRDHYV

>ADN VH SC08-016 (SEQ ID NO: 13)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTTCAGCC  
TCTGAATTCAGCTTCAGTAGTTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTG  
GCCAACATGAAGCAAGATGGAAGTGAGAAGTACTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGA  
GACAACGCCAAGAACTCATTATATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGGCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT  
GCGAGGGGTTCTGTGACGATTCTTGGACTGGTTGTCATGATGCTTTTGACA<sup>1</sup>TC

>PROTEIN VH SC08-016 (SEQ ID NO: 14)

EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCSASEFSFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANMKQDGSEKYYVDSVKGRFTISR  
DNAKNSLYLQMNSLRGEDITAVYYCARGSCDDSWTGCHDAFDI

>ADN VL SC08-016 (SEQ ID NO: 15)

CAGTCTGTCTGTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCACCATCTCCTGCACTGGG  
AGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGATGTACACTGGTACCAGCAGCTTCAGGAACAGCCCCCAAATC  
CTCATCTATGGTAACAACAATCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGATCCAGGTCTGGCCCTTTA  
GCCCTCCTGGCCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGACAGCAGC  
CTGAGTGTTTATGTC

>PROTEIN VL SC08-016 (SEQ ID NO: 16)

QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSRSGPL  
ALLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSVYV

>ADN VH SC08-017 (SEQ ID NO: 17)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTTCAGCC  
TCTGAATTCAGCTTCAGTAGTTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTG  
GCCAACATGAAGCAAGATGGAAGTGAGAAGTACTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGA  
GACAACGCCAAGAACTCATTATATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGGCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT  
GCGAGGGGTTCTGTGACGATTCTTGGACTGGTTGTCATGATGCTTTTGACATC

>PROTEIN VH SC08-017 (SEQ ID NO: 18)

EVQLVETGGDLVQPGGSLRLSCSASEFSFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANMKQDGSEKYYVDSVKGRFTISR  
DNAKNSLYLQMNSLRGEDTAVYYCARGSCDDSWTGCHDAFDI

>ADN VL SC08-017 (SEQ ID NO: 19)

TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGA  
GACAGCCTCAGAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCTGTACTTGTCTATCTAT  
GCTAAAACCAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGATTCTCTGGCTCCACCTCAGGAAACACTGCTTCCTTG  
ACCATCACTGGGGCTCAGGCGGAGGATGAGGCTGACTATTACTGTAACCTCCCGGGACAGCAGTGGTAACCAT  
GTGGTA

>PROTEIN VL SC08-017 (SEQ ID NO: 20)

SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYASWYQQKPGQAPVFLVIYAKTNRPSGIPDRFSGSTSGNTASL  
TITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHV

>ADN VH SC08-018 (SEQ ID NO: 21)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTTTCAGCC  
TCTGAATTCAGCTTCAGTAGTTATTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTG  
GCCAACATGAAGCAAGATGGAAGTGAGAAGTACTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGGTTTACCATCTCCAGA  
GACAACGCCAAGAACTCATTATATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGGCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT  
GCGAGGGGTTCTGTGACGATTCTTGGACTGGTTGTCTATGATGCTTTTGATATC

>PROTEIN VH SC08-018 (SEQ ID NO: 22)

EVQLVETGGDLVQPGGSLRLSCSASEFSFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANMKQDGSEKYYVDSVKGRFTISR  
DNAKNSLYLQMNSLRGEDTAVYYCARGSCDDSWTGCHDAFDI

>ADN VL SC08-018 (SEQ ID NO: 23)

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGA  
ACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAAAGTC  
ATGATTTATGAGGTCAGTCATCGGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAGCACG  
GCCTCCCTGACCATCTCTGGCCTCCAGTCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCTTATACAGGTGAA  
GGCCCCCTAGGAGTG

>PROTEIN VL SC08-018 (SEQ ID NO: 24)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSHRPSGVSNRFSGSKSGST  
ASLTISGLQSEDEADYYCSSYTGEGLGV

>ADN VH SC08-019 (SEQ ID NO: 25)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGGAGCC  
TCTGGAATCAGCGTTAGCACTTCTGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGTTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTG  
TCAGGTATTAGTGGTAGTGGTGCTACCACATACTACGCAGGCTCCGTGAAGGGTCGATTACCATCTCCAGA

GACAAATCCAAGAACACACTGCATCTGCAAATGAGCAGACTGAGAGCCGAGGACACGGCCATTTACTACTGT  
GCGAAAGATACCTCCTTGTTTGAGTATGATACAAGTGGTTTTACGGCTCCCGGCAATGCTTTTGATATC

>PROTEIN VH SC08-019 (SEQ ID NO: 26)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCGASGISVSTSAMSWVRQVPGKGLEWVSGISGSGATTYYAGSVKGRFTISR  
DKSKNTLHLQMSRLRAEDTAIYYCAKDTSLFEYDTSGFTAPGNAFDI

>ADN VL SC08-019 (SEQ ID NO: 27)

GACATCCAGWTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGATGACAQAGTCACCATCACTTGCCGG  
GCAAGTCAGAGCATTAGCGGCTATTTAAATTGGTATCAACAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAACCTCCTGATC  
TATGGTGCATCCACTTTGCAGAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT  
CTCACCATCACAGTCTGCAACCTGAAGACTATGCAACTTACTACTGTCAACAGACTTACACCTCCCCCTCCG  
TACGCT

>PROTEIN VL SC08-019 (SEQ ID NO: 28)

DIQXTQSPSSLSASVDDRVTITCRASQSIGYLNWYQQKPGKAPNLLIYGASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFT  
LTITSLQPEDYATYYCQQTYTSPPYA

>ADN VH SC08-020 (SEQ ID NO: 29)

CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGAGCTGAGGTGAAGACCCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCC  
TCTGGATACACCTTTACCAGGTTTGGTGTGAGCTGGATACGACAGGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATT  
GGATGGATCAGCGCTTACAATGGTGACACATACTATGCACAGAAGTTCCAGGCCAGAGTCACCATGACCACA  
GACACATCCACGACCACAGCCTACATGGAGATGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGT  
GCGAGAGAACCCCCCTTTTTTACAGCAGCTGGTCTCTTGACAAC

>PROTEIN VH SC08-020 (SEQ ID NO: 30)

QVQLQQSGAEVKTPGASVKVSKASGYTFTRFGVSWIRQAPQGLEWIGWISAYNGDTYYAQKFQARVTMTT  
DTSTTTAYMEMRSLRSDDTAVYYCAREPPLFYSSWSLDN

>ADN VL SC08-020 (SEQ ID NO: 31)

GAAATTGTGWTGACRCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG  
GCCAGTCAGAGTGTTAGCATGAACTACTTAGCCTGGTTCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTC  
ATCTATGGTGCCTCCCGCAGGGCCACTGGCATCCCCGACAGGATCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTC  
ACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGCAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGACAGTATGGTACCTCACCT  
CGGACG

>PROTEIN VL SC08-020 (SEQ ID NO: 32)

EIVXTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSMNYLAWFQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIPDRISGSGSGTDF  
TLTISRLEPADFAVYYCQQYGTSPRT

>ADN VH SC08-021 (SEQ ID NO: 33)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGATACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC  
TCTGGATTACACCTTTAGCGCCTATGCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTC  
TCAGCTATTGGTGGTAGTGGCGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGA  
GACAACTCCAAGAAGATCCTGTATCTGCAAATGAACGGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCATATATTACTGT  
GCGAAAGGCCGGGATTGGACTGGGGGTACTTCTTTGACTCC

>PROTEIN VH SC08-021 (SEQ ID NO: 34)

EVQLVESGGGLIQPGSLRLSCAASGFTFSAYAMNWRQAPGKLEWVSAIGSGGSTYYADSVKGRFTISR  
DNSKKILYLQMNGLRAEDTAIYYCAKGRDWTGGYFFDS

>ADN VL SC08-021 (SEQ ID NO: 35)

GACATCCAGWTGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAG  
TCCAGCCAGAGTATTTTCTACAGCTCCAACAATAAGAACTACTTAACTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAG  
CCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGAGTCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGG  
TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAA  
TACTATAGTATTCCTTACACT

>PROTEIN VL SC08-021 (SEQ ID NO: 36)

DIQXTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSIFYSSNNKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSG  
SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQYYYSIPYT

>ADN VH SC08-038 (SEQ ID NO: 37)

GAGGTGCAGCTGGTGGACTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC  
TCTGGATTGCGCTTTAGCGGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTC  
TCAGATATTGGTGGTAGTGGTGGTGGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGA  
GACAATGCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAATAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGT  
GCGAAAAGCAGTAGCTGGGACCGGGCCTACTTCTTTGACTCC

>PROTEIN VH SC08-038 (SEQ ID NO: 38)

VQLVDSGGGLVQPGSLRLSCAASGFAFSGYAMSWVRQAPGKLEWVSDIGSGGGTYYADSVKGRFTISR  
NAKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAKSSSWDRAYFFDS

>ADN VL SC08-038 (SEQ ID NO: 39)

GATATTGTGATGACCCAGACTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAG  
TCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCATCCATAAGAACTACTTAGCCTGGTACCAGCAAAAACCAGGACAG  
CCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGG  
TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAA  
TATTATAGATCTCCTCCAAC

>PROTEIN VL SC08-038 (SEQ ID NO: 40)

DIVMTQTPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSIHKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSG  
SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQYYRSPPT

>ADN VH SC08-039 (SEQ ID NO: 41)

CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACGTGCACTGTC  
TCTGGCGGCTCCATCGGTAGTTACTACTGGAGCTGGATACGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATT  
GGATATATCTATTACCGTGGGGGTACCAGTTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTCGAC  
ACGTCCAAGAGCCAGTTCACCTTGAAGCTGAACTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCG  
AGAAAGGACTGGGGATCAGCGGCCGGAAGTGTCTGGTACTTCGATCTC

>PROTEIN VH SC08-039 (SEQ ID NO: 42)

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIGSYYSWIRQPPGKLEWIGYIYYRGGTSYNPSLKSRVTISVD  
TSKSQFTLKLNSVTAADTAVYYCARKDWGSAAGSVWYFDL

>ADN VL SC08-039 (SEQ ID NO: 43)

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTCCCTCCGCGTCCGGGTCTCCTGGACAGTCAGTCACCATCTCCTGCACTGGA  
ACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAATTATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAAACCTC  
ATGATTCTGTGAGGTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGATCGCTTCTCTGGTTCCAAGTCTGGCAACACG  
GCCTCCCTGACCGTCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGAATACTACTGCAGCTCGTATGCAGGCAGC  
ACAATCTGATA

>PROTEIN VL SC08-039 (SEQ ID NO: 44)

QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIREVSKRPSGVPDRFSGSKSGNT  
ASLTVSGLQAEDAEYYCSSLYAGSNNLI

>ADN VH SC08-040 (SEQ ID NO: 45)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCAGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCG  
TCTGGATTCTGCTTTTCACTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGACTGGAGTGGGTG  
ACCTTTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAACAATGCACTATGCAGACTCCATGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGA  
GACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAGCAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTTTATTACTGT  
GCGAGAGATGGGGGATATAGCACCTGGGAATGGTACTTCGATCTC

>PROTEIN VH SC08-040 (SEQ ID NO: 46)

EVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFAFSSYGMHWVRQAPGKLEWVTFIWDGSKHYADSMKGRFTISR  
DNSKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARDGGYSTWEWYFDL

>ADN VL SC08-040 (SEQ ID NO: 47)

GAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCGACTTTTCACTGTGACTCCAAAGGAGAGAGTCACCATCACCTGCCGG  
GCCAGTCAGGGCATTGGCAGTAACCTTACTGGTACCAGCAGAAACCAGATCAGTCTCCAAAGCTCCTCATC  
AAGTATGCTTCCAGTCCATCACAGGGGTCCCCTCGAGGTTCACTGGCAGGGGATCTGGGACAGATTTACC

CTCACCATCAATAGCCTGGAAGTTGAAGATGCTGCAGTGTATTACTGTCATCAGAGTAGTAGTTTACCGCTC  
ACT

>PROTEIN VL SC08-040 (SEQ ID NO: 48)

EIVLTQSPDFQSVTPKERVTTICRASQIGISNLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSITGVPSRFSGRSGTDFT  
LTINSLEVEDAAVYYCHQSSSLPLT

>ADN VH SC08-041 (SEQ ID NO: 49)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCCAGGCT  
TCGGGTTACACCTTTACCTCCTTTGGTCTCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCCTGAGTGGATG  
GGATGGATCAGCGCTTACAATGGTGAAATAAAGTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCTCCATGACCACA  
GACACATCAACGAGGACAGCCTACATGGAGGTGCGGAGCCTCAGACCTGACGACACGGCCGTATACTACTGT  
GCGAGAGAGCCCCCCTGTATTTTCAGTAGCTGGTCTCTCGACTTC

>PROTEIN VH SC08-041 (SEQ ID NO: 50)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYTFTSFGLSWVRQAPGQGPPEWMGWISAYNGEIKYAQKFQGRVSMTT  
DTSTRTAYMEVRSRPPDDTAVYYCAREPPLYFSSWSLDF

>ADN VL SC08-041 (SEQ ID NO: 51)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG  
GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAACTACTTAGCCTGGTTCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTC  
ATCTATGGTGCATCAAGGAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTC  
ACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGATAGCTCACCT  
CGGACG

>PROTEIN VL SC08-041 (SEQ ID NO: 52)

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWFQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSGTDF  
TLTISRLEPEDFAVYYCQQYDSSPRT

>ADN VH SC08-043 (SEQ ID NO: 53)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGCTTTCCTGCAAGGCT  
TCTGGATACACCTTCACTGCCTATTCTATGCATTGGGTGCGCCAGGCCCCCGGACAAAGCCTTGAGTGGTTG  
GGATGGATCAAACTGCCATCGGTAACACACAATATTCACAGAAGTTCCAGGACAGAGTCACCATTACCAGG  
GACACATCTGCGCGCACATCGTACATGGAAGTGGAGCAGCCTGAGATCTGGAGACACGGCTGTCTATTTCTGT  
GCGAGAGGGGCTCTTGGGACGCCCCGTGGGTGGTCTGGCTAC

>PROTEIN VH SC08-043 (SEQ ID NO: 54)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTAYSMHWVRQAPGQSLEWLGWINTAIGNTQYSQKFQDRVITTR  
DTSARTSYMELSSLRSGDTAVYFCARGASWDARGWSGY

>ADN VL SC08-043 (SEQ ID NO: 55)

GACATCCAGWTGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAG  
 TCCAGCCAGAGTGTTTTTCCAGCTCCACCAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAG  
 CCTCCTAAGGTGCTAATTTACTGGTCATCTACCCGGAATCCGGGGTCCCTGACCGATTAGTGCCAGCGGG  
 TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGCAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCACCAA  
 TATTATACTGCTCCGTGGACG

>PROTEIN VL SC08-043 (SEQ ID NO: 56)

DIQXTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVFSSSTNKNYLAWYQKPGQPPKVLIIYWSSTRESGVPDRFSASG  
 SGTDFTLTISLQAADVAVYYCHQYYTAPWT

>ADN VH SC08-049 (SEQ ID NO: 57)

CAGGTCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTGTACTGGTGAAGCCCAAAGAGACCCTCACGCTGACCTGCACCGTC  
 TCTGGGTTCTCACTCAGCAACACTAGAAATGGGTGTGAGTTGGATCCGTGAGCQCCAGGGAAGGCCCTGGAG  
 TGGCTTGCGCACATCTTTTGAACGACGAAACATCCTACAGGACATCTCTGAAGAGGAGGCTCACCATCTCC  
 CAGGACATCTCCAAAGTCAGGTGGTCCTTTCTATGACCAACGTGGACCCTGCAGACACAGCCACATATTTT  
 TGTGCACGGATCGGGTCTGGCTATGAGAGTAGTGCTTACTCCACCTGGCTCGACCCC

>PROTEIN VH SC08-049 (SEQ ID NO: 58)

QVTLKESGPVLVKPKETLTLTCTVSGFSLNTRMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSNDETSYRTSLKRRLTIS  
 QDISKSQVVLSTNVDPADTATYFCARIGSGYESSAYSTWLDLP

>ADN VL SC08-049 (SEQ ID NO: 59)

CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTGAGTGGCCCCAGGGCAGACGGCCAGGCTCACCTGTGAGGGA  
 GACACAATTGGCAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCAGCAGAGGCCAGGCCAGGCCCTGTGTTGGTCTGTCTAT  
 AATGATCGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGCGCACGGCCACCCTG  
 ACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTTCTGTGAGGTGTGGGAGAGTGGAGGTGATCAG  
 ACTGTC

>PROTEIN VL SC08-049 (SEQ ID NO: 60)

QSVLTQPPSVSVAPGQTARLTCEGDTIGSKSVHWYQQRPGQAPVLVVYNDRDRPSGIPERFSGSNSGRTATL  
 TISRVEAGDEADYFCQVWESGGDQTV

>ADN VH SC08-050 (SEQ ID NO: 61)

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTATTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTG  
 TATGGTGGGTCGTTCACTGATCACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGTCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATT  
 GGTGAAGTCGTTCATAGTGGAGACACCAACTACACCCCGTCCCTCAGAAATCGAGTTTCCATATCGGTTCGAC  
 TCGTCCAAGAATCAGTTCTCCCTGAGGCTGGGGTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTCTATTACTGTGCG  
 AGAGGCAGGAATGTTGCGGTAGTTGGTGCTATTCAGAGGCACTATGACTAC

>PROTEIN VH SC08-050 (SEQ ID NO: 62)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFTHYWSWIRQSPGKGLEWIGEVVHSGDTNYTPSLRNRVSISVD  
SSKNQFSLRLGSVTAADTAVYYCARGRNVAVVGAIQRHYDY

>ADN VL SC08-050 (SEQ ID NO: 63)

GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG  
GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGAACTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAGCCTGGCCTGGCTCCCAGGCTCCTC  
ATCTCTGGTGCATCGAGCAGGGCCACTGGCGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGGGGGTCTGACACAGACTTC  
ACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCCGTGTATTACTGTGACACTATGGTTCGGTCCTT  
GTAGCT

>PROTEIN VL SC08-050 (SEQ ID NO: 64)

EIVMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRNYLAWYQQKPGAPRLLISGASSRATGVPDRFSGRGSDDTF  
TLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSLVA

>ADN VH SC08-052 (SEQ ID NO: 65)

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTC  
TCTGGTGGCTCCGTGACAGTGGTACTTACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAG  
TGGATTGGGGATATCTCTTACAGTGGGAGCACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATTCT  
AGAGACACGTCCAAGAACCTGGTCTCCCTGAAGCTGACCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGCATTAC  
TGTGCGAGAGCGATGGCGGCTTATAATTATGACAGGGGTGGTTATAACGACTACTACTACATGGACGTC

>PROTEIN VH SC08-052 (SEQ ID NO: 66)

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGTYYSWIRQPPGKGLEWIGDISYSGSTNYPNPSLKSRVTIS  
RDTSKNLVSLKLTSTVTAADTAVHYCARAMAAYNYDRGGYNDYYYMDV

>ADN VL SC08-052 (SEQ ID NO: 67)

GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTGCGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGG  
GCAAGTCAGGGCATTAAACACCTATTTAAATTGGTATCAGCAAAAACCAGGGAAGGCCCCCTAAGGTCCTGATC  
TTTGCTGCATCCACTTTGCAAAGTGGAGTCCCATCAAGGTTCACTGGCAGTGGTTCTGGGACAGAATTCAC  
CTCAACATCAACAATCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACTGCGATC  
ACT

>PROTEIN VL SC08-052 (SEQ ID NO: 68)

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGINTYLNWYQQKPGKAPKVLIFAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFT  
LNINNLQPEDFATYYCQQSYSTAIT

>ADN VH SC08-055 (SEQ ID NO: 69)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCGGCG  
TCTGGATTGAGCTTACCACCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTG  
GCCTTTATTTGGTATGATGGAAGTAACAAACACTATCAAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAAG

GACAATTCCAACAACATGTTGTATCTGCAAATGGACAGCCTGAGAGTCGCCGACACGGCTGTTTATTACTGT  
GTGAGAGATGGGGGATATAGCACCTGGGAATGGTACTTCGATCTC

>PROTEIN VH SC08-055 (SEQ ID NO: 70)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFTTYGMHWVRQAPGKLEWVAFIWDGSGNKHQDSVKGRFTISK  
DNSNNMLYLQMDSLRVADTAVYYCVRDGGYSTWEWYFDL

>ADN VL SC08-055 (SEQ ID NO: 71)

GAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCAGACTTTCAGTCTGTGGCTCCAAAGGAGAAAGTCACCATCACCTGCCGG  
GCCAGTCGGAGCATTGGTAGTGACTTGCACTGGTTTCAGCAGAGGCCAGATCAGTCTCCAAAGCTCCTCATC  
AAGTTTGCTTCCCAGTCCATGTCAGGGGTCCCCTCGAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAGAGATTTACC  
CTCACCATCAGTAGCCTGGAGGCTGAAGATGCTGCTACGTATTACTGTCATCAGAGTAGTAGTTTACCGCTC  
ACT

>PROTEIN VL SC08-055 (SEQ ID NO: 72)

EIVLTQSPDFQSVAPKEKVTITCRASRSIGSDLHWFQQRPDQSPKLLIKFASQMSGVPSRFSGSGSGRDF  
LTISSLEAEDAATYYCHQSSSLPLT

>ADN VH SC08-057 (SEQ ID NO: 73)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTCCAACTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC  
TCTGGGTTACCGACAGTGTCTTTCATGAGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGTGTC  
TCAATTATTTATATCGATGATTCCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGACAC  
AATTCATGGGCACAGTGTTCCTTGAATGAACAGCCTGAGACCTGACGACACGGCCGTCTATTACTGTGCG  
ACAGAGAGCGGAGACTTTGGTGACCAAACGGGTCCCTATCATTACTACGCTATGGACGTC

>PROTEIN VH SC08-057 (SEQ ID NO: 74)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTDSVIFMSWVRQAPGKLECVSIIYIDDSITYYADSVKGRFTISR  
NSMGTVFLEMNLRPDDTAVYYCATESGDFGDQTPYHYAMDV

>ADN VL SC08-057 (SEQ ID NO: 75)

CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGA  
AGCAGCGGTGACATTGGTGGTTATAACGCTGTCTCCTGGTACCAACACCACCCAGGCAAAGCCCCAACTG  
ATGATTTATGAGGTCACTAGTCGGCCCTCAGGGGTTTCCGATCGCTTCTCTGCGTCCAGGTCTGGCGACACG  
GCCTCCCTGACTGTCTCTGGTCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTCACTATTACTGCTGCTCATTTGCAGACAGC  
AACATTTTGATT

>PROTEIN VL SC08-057 (SEQ ID NO: 76)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSSGDIGGYNAVSWYQHHPGKAPKLMIYEVTSRPSGVSDRFSASRSGDT  
ASLTVSGLQAEDEAHYYCCSFADSNILI

>ADN VH SC08-069 (SEQ ID NO: 77)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGTCGTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCC  
TCTGGCTTCACGTTTGAGGATTATACCATGCAGCTGGGTCCGTCAAGTTCCGGGGAAGGGTCTGGAGTGGGTC  
GCGCTCATTAGTTGGGATGGCGGTATGTCAAACCTATGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGA  
GACAACAGCAAAAACTCTCTGTATCTGCAAGTGAGCAGTCTGAGAAGTGAAGACACCGCCCTGTATTACTGT  
GCAAAAGATATACGACCCCGTATGCCAGCTCGTCACTTTATGGACGTC

>PROTEIN VH SC08-069 (SEQ ID NO: 78)

EVQLVETGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTTFEDYTMHWVRQVPGKGLEWVALISWDGGMSNYADSVKGRFTISR  
DNSKNSLYLQVSSLRSEDTALYYCAKDIRPRMPARHFMDV

>ADN VL SC08-069 (SEQ ID NO: 79)

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCGGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG  
GCCAGTCAGAATGTCAACTACAACCTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATC  
TATGTTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGACAGGTTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAGTTCACT  
CTCACCATCAGCAGTCTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGTATAATAACTGGCCTCCG  
GCGATCACT

>PROTEIN VL SC08-069 (SEQ ID NO: 80)

EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQNVNYNLAWYQQKPGQAPRLLIYVASTRATGIPDRFSGSGSGTEFT  
LTISSLQSEDFAVYYCQQYNNWPPAIT

>ADN HC CR6261 (SEQ ID NO: 185)

|            |            |             |            |            |            |
|------------|------------|-------------|------------|------------|------------|
| gaggtgcagc | tggtggagtc | tggggctgag  | gtgaagaagc | ctgggtcctc | ggtgaaagtc |
| 60         |            |             |            |            |            |
| tcttgcaagg | cttctggagg | ccccttccgc  | agctatgcta | tcagctgggt | gcgacaggcc |
| 120        |            |             |            |            |            |
| cctggacaag | ggcctgagtg | gatgggaggg  | atcatcccta | tttttggtac | aacaaaatac |
| 180        |            |             |            |            |            |
| gcaccgaagt | tccagggcag | agtcacgatt  | accgcggacg | atttcgcggg | cacagtttac |
| 240        |            |             |            |            |            |
| atggagctga | gcagcctgcg | atctgaggac  | acggccatgt | actactgtgc | gaaacatatg |
| 300        |            |             |            |            |            |
| gggtaccagg | tgcgcgaaac | tatggacgtc  | tggggcaaag | ggaccacggt | caccgtctcg |
| 360        |            |             |            |            |            |
| agtgctagca | ccaagggccc | cagcgtgttc  | cccctggccc | ccagcagcaa | gagcaccagc |
| 420        |            |             |            |            |            |
| ggcggcacag | ccgccctggg | ctgcctgggtg | aaggactact | tccccgagcc | cgtgaccgtg |
| 480        |            |             |            |            |            |
| agctggaaca | gcggcgcctt | gaccagcggc  | gtgcacacct | tccccgccgt | gctgcagagc |
| 540        |            |             |            |            |            |

```

agcggcctgt  acagcctgag  cagcgtggtg  accgtgccca  gcagcagcct  gggcacccag
600
acctacatct  gcaacgtgaa  ccacaagccc  agcaacacca  aggtggacaa  acgctgggag
660
cccaagagct  gcgacaagac  ccacacctgc  cccccctgcc  ctgcccccca  gctgctgggc
720
ggaccctccg  tgttcctggt  cccccccaag  cccaaggaca  ccctcatgat  cagccggacc
780
cccagaggtga  cctgcgtggt  ggtggacgtg  agccacgagg  accccgaggt  gaagttcaac
840
tggtacgtgg  acggcgtgga  ggtgcacaac  gccaaagacca  agccccggga  ggagcagtac
900
aacagcacct  accgggtggt  gagcgtgctc  accgtgctgc  accaggactg  gctgaacggc
960
aaggagtaca  agtgcaaggt  gagcaacaag  gccctgcctg  ccccatcga  gaagaccatc
1020
agcaaggcca  agggccagcc  ccgggagccc  caggtgtaca  ccctgcccc  cagccgggag
1080
gagatgacca  agaaccaggt  gtccctcacc  tgtctggtga  agggcttcta  cccagcgac
1140
atcgccgtgg  agtgggagag  caacggccag  cccgagaaca  actacaagac  cccccccct
1200
gtgctggaca  gcgacggcag  cttcttctg  tacagcaagc  tcaccgtgga  caagagccgg
1260
tggcagcagg  gcaacgtggt  cagctgcagc  gtgatgcacg  aggcctgca  caaccactac
1320
accagaaga  gcctgagcct  gagccccggc  aag
1353

```

>PROTEIN HC CR6261 (SEQ ID NO: 186)

E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G P F R S Y A I S W  
 V R Q A P G Q G P E W M G G I I P I F G T T K Y A P K F Q G R V T I T A  
 D D F A G T V Y M E L S S L R S E D T A M Y Y C A K H M G Y Q V R E T M  
 D V W G K G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A  
 A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S  
 S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D  
 K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K  
 D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V  
 H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K  
 C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E  
 E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K  
 T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M  
 H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

>ADN LC CR6261 (SEQ ID NO: 187)

|            |            |            |             |            |            |
|------------|------------|------------|-------------|------------|------------|
| cagtctgtgt | tgacgcagcc | gccctcagtg | tctgcggccc  | caggacagaa | ggtcaccatc |
| 60         |            |            |             |            |            |
| tcctgctctg | gaagcagctc | caacattggg | aatgattatg  | tatcctggta | ccagcagctc |
| 120        |            |            |             |            |            |
| ccaggaacag | cccccaaact | cctcatttat | gacaataata  | agcgaccctc | agggattcct |
| 180        |            |            |             |            |            |
| gaccgattct | ctggctccaa | gtctggcacg | tcagccaccc  | tgggcatcac | cggactccag |
| 240        |            |            |             |            |            |
| actggggacg | aggccaacta | ttactgcgca | acatgggatc  | gccgcccgac | tgcttatgtt |
| 300        |            |            |             |            |            |
| gtcttcggcg | gagggaccaa | gctgaccgtc | ctaggtgcgg  | ccgcaggcca | gccaaggcc  |
| 360        |            |            |             |            |            |
| gctcccagcg | tgaccctgtt | ccccccctcc | tccgaggagc  | tgcaggccaa | caaggccacc |
| 420        |            |            |             |            |            |
| ctggtgtgcc | tcatcagcga | cttctaccct | ggcgccgtga  | ccgtggcctg | gaaggccgac |
| 480        |            |            |             |            |            |
| agcagccccg | tgaaggccgg | cgtggagacc | accacccccca | gcaagcagag | caacaacaag |
| 540        |            |            |             |            |            |
| tacgcccgca | gcagctacct | gagcctcacc | cccgagcagt  | ggaagagcca | ccggagctac |
| 600        |            |            |             |            |            |
| agctgccagg | tgaccacaga | gggcagcacc | gtggagaaga  | ccgtggcccc | caccgagtgc |
| 660        |            |            |             |            |            |
| agc        |            |            |             |            |            |
| 663        |            |            |             |            |            |

>PROTEIN LC CR6261 (SEQ ID NO: 188)

Q S V L T Q P P S V S A A P G Q K V T I S C S G S S S N I G N D Y V S W  
Y Q Q L P G T A P K L L I Y D N N K R P S G I P D R F S G S K S G T S A  
T L G I T G L Q T G D E A N Y Y C A T W D R R P T A Y V V F G G G T K L  
T V L G A A A G Q P K A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L  
I S D F Y P G A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K  
Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A  
P T E C S

Vecto pIg-C911-HCgama (SEQ ID NO:190)

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| tgcacggatc gggagatctc ccgatcccct atggtgcact ctcagtacaa tctgctctga  | 60   |
| tgccgcatag ttaagccagt atctgctccc tgcttggtgtg ttggaggctg ctgagtagtg | 120  |
| cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggccttgacc gacaattgca tgaagaatct | 180  |
| gcttaggggtt aggcgttttg cgtgcttcg ctagggtggtc aatattggcc attagccata | 240  |
| ttattcattg gttatatagc ataaatcaat attggctatt ggccattgca tacgttgat   | 300  |
| ccatatcata atatgtacat ttatatggc tcatgtccaa cattaccgcc atgttgacat   | 360  |
| tgattattga ctagttatta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat  | 420  |
| atggagttcc gcgttacata acttacggta aatggccgc ctggctgacc gcccaacgac   | 480  |
| ccccgccat tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc   | 540  |
| cattgacgtc aatgggtgga gtatttacgg taaactgcc acttggcagt acatcaagt    | 600  |
| tatcatatgc cagtacgcc ccctattgac gtcaatgacg gtaaattggc cgcctggcat   | 660  |
| tatgcccagt acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc  | 720  |
| atcgctatta ccatggtgat gcggttttg cagtacatca atgggcgtgg atagcggttt   | 780  |
| gactcacggg gatttccaag tctccacccc attgacgtca atgggagttt gttttggcac  | 840  |
| caaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg cccattgac gcaaatggc     | 900  |
| ggtaggcgtg tacggtggga ggtctatata agcagagctc gtttagtgaa ccgtcagatc  | 960  |
| gcctggagac gccatccacg ctgttttgac ctccatagaa gacaccgga ccgatccagc   | 1020 |
| ctccgcggcc gggaacggtg cattggaagc tggcctggat atcctgactc tcttaggtag  | 1080 |
| ccttgcagaa gttggtcgtg aggcactggg caggtaagta tcaaggttac aagacaggtt  | 1140 |
| taaggagatc aatagaaact gggcttgctg agacagagaa gactcttgcg tttctgatag  | 1200 |
| gcacctattg gtcttactga catccacttt gcctttctct ccacagggtg ccaactccag  | 1260 |
| ttcaattaca gctcgccacc atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtactgctgc  | 1320 |
| tggcccagcc ggccagtgc cttgaccggt gcaccacttt tgatgatgtt caagctccta   | 1380 |
| attacactca acatacttca tctatgaggg ggtttacta tcctgatgaa attttagat    | 1440 |
| cggacactct ttatttaact caggatttat ttcttcatt ttatttctaat gttacagggt  | 1500 |
| ttcatactat taatcatagc tttggcaacc ctgtcatacc ttttaaggat ggtatttatt  | 1560 |
| ttgctgccac agagaaatca aatgttgctc gtggttggt ttttggttct accatgaaca   | 1620 |
| acaagtcaca gtcggtgatt attattaaca attctactaa tgttggtata cgagcatgta  | 1680 |
| actttgaatt gtgtgacaac ctttctttg ctgtttctaa acccatgggt acacagacac   | 1740 |
| atactatgat attcgataat gcatttaatt gcactttcga gtacatatct gatgcctttt  | 1800 |
| cgttgatgt ttcagaaaag tcaggtaatt ttaaactctt acgagagttt gtgtttaaaa   | 1860 |

|            |             |            |             |             |             |      |
|------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|------|
| ataaagatgg | gtttctctat  | gtttataagg | gctatcaacc  | tatagatgta  | gttcgtgatc  | 1920 |
| tacottcttg | ttttaacact  | ttgaaacct  | tttttaagtt  | gcctcttggt  | attaacatta  | 1980 |
| caaattttag | agccattctt  | acagcctttt | cacctgctca  | agacatttgg  | ggcacgtcag  | 2040 |
| ctgcagccta | ttttgttgge  | tatttaaagc | caactacatt  | tatgctcaag  | tatgatgaaa  | 2100 |
| atggtacaat | cacagatgct  | gttgattgtt | ctcaaaatcc  | acttgctgaa  | ctcaaagct   | 2160 |
| ctgttaagag | ctttgagatt  | gacaaaggaa | tttaccagac  | ctctaatttc  | agggttggtc  | 2220 |
| cctcaggaga | tggtgtgaga  | ttccctaata | ttacaaactt  | gtgtcctttt  | ggagagggtt  | 2280 |
| ttaatgctac | taaattccct  | tctgtctatg | catgggagag  | aaaaaaaaat  | tctaattgtg  | 2340 |
| ttgctgatta | ctctgtgctc  | tacaactcaa | catttttttc  | aacctttaag  | tgctatggcg  | 2400 |
| tttctgccac | taagttgaat  | gatctttgct | tctccaatgt  | ctatgcagat  | tctttttag   | 2460 |
| tcaagggaga | tgatgtaaga  | caaatagcgc | caggacaaac  | tggtgttatt  | gctgattata  | 2520 |
| attataaatt | gccagatgat  | ttcatgggtt | gtgtccttgc  | ttggaatact  | aggaacattg  | 2580 |
| atgctacttc | aactggtaat  | tataattata | aatataggta  | tcttagacat  | ggcaagotta  | 2640 |
| ggccctttga | gagagacata  | tctaattgtc | ctttctcccc  | tgatggcaaa  | ccttgcaccc  | 2700 |
| cacctgctct | taattgttat  | tggccattaa | atgattatgg  | tttttacacc  | actactggca  | 2760 |
| ttggctacca | accttacaga  | gtttagtag  | tttcttttga  | acttttaaat  | gcaccggcca  | 2820 |
| cggtttgtgg | acaaaaatta  | tccactgacc | ttattaagaa  | ccagtgtgtc  | aattttaatt  | 2880 |
| ttaatggact | cactgggtact | ggtgtgttaa | ctccttcttc  | aaagagattt  | caaccatttc  | 2940 |
| aacaatttgg | ccgtgatgtt  | tctgatttca | ctgattccgt  | togagatcct  | aaaacatctg  | 3000 |
| aaatattaga | catttcacct  | tgctcttttg | ggggtgtaag  | tgtaattaca  | cctggaacaa  | 3060 |
| atgcttcac  | tgaagttgct  | gttctatata | aagatgttaa  | ctgcactgat  | gtttctacag  | 3120 |
| caattcatgc | agatcaactc  | acaccagctt | ggcgcatata  | ttctactgga  | aacaatgtat  | 3180 |
| tccagactca | ggcaggctgt  | cttataggag | ctgagcatgt  | cgacacttct  | tatgagtgcg  | 3240 |
| acattcctat | tggagctggc  | atttgtgcta | gttaccatac  | agtttcttta  | ttacgtagta  | 3300 |
| ctagccaaaa | atctattgtg  | gcttatacta | tgtcttttag  | tgctgatagt  | tcaattgctt  | 3360 |
| actctaataa | caccattgct  | atacctacta | acttttcaat  | tagcattact  | acagaagtaa  | 3420 |
| tgctgtttc  | tatggctaaa  | acctccgtag | attgtaatat  | gtacatctgc  | ggagattcta  | 3480 |
| ctgaatgtgc | taatttgctt  | ctccaatatg | gtagcttttg  | cacacaacta  | aatcgtgcac  | 3540 |
| tctcaggat  | tgctgctgaa  | caggatcgca | acacacgtga  | agtgttcgct  | caagtcaaac  | 3600 |
| aatgtacaa  | aacccaact   | ttgaaatatt | ttggtgggtt  | taatttttca  | caaataattac | 3660 |
| ctgaccctct | aaagccaact  | aagaggctct | ttattgagga  | cttgctcttt  | aataagggtga | 3720 |
| cactogctga | tgctggcttc  | atgaagcaat | atggcgaaat  | cctaggtgat  | attaatgcta  | 3780 |
| gagatctcat | ttgtgcgcag  | aagttcaatg | gacttacagt  | gttgccacct  | ctgctcactg  | 3840 |
| atgatatgat | tgctgcctac  | actgctgctc | tagttagtgg  | tactgccact  | gctggatgga  | 3900 |
| catttggtgc | tggcgtgct   | cttcaaatac | cttttgctat  | gcaaattggca | tataggttca  | 3960 |
| atggcattgg | agttacccaa  | aatgttctct | atgagaacca  | aaaacaaatc  | gccaaaccaat | 4020 |
| ttaacaaggc | gattagtcaa  | attcaagaat | cacttacaac  | aacatcaact  | gcattgggca  | 4080 |
| agctgcaaga | cgttgttaac  | cagaatgctc | aagcattaaa  | cacacttggt  | aaacaactta  | 4140 |
| gctctaattt | tggtgcaatt  | tcaagtgtgc | taaatgatata | ccttttcgca  | cttgataaag  | 4200 |
| togaggcgga | ggtacaaatt  | gacagggtta | ttacaggcag  | acttcaaagc  | cttcaaacct  | 4260 |
| atgtaacaca | acaactaatc  | agggtgctg  | aaatcagggc  | ttctgctaata | cttgctgcta  | 4320 |

|             |            |             |             |             |             |      |
|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| ctaaaatgtc  | tgagtgtgtt | cttggacaat  | caaaaagagt  | tgacttttgt  | ggaaagggct  | 4380 |
| accacettat  | gtccttccca | caagcagccc  | cgcattggtgt | tgtcttccta  | catgtcacgt  | 4440 |
| atgtgccatc  | ccaggagagg | aacttcacca  | cagcgccagc  | aatttgtcat  | gaaggcaaag  | 4500 |
| catacttccc  | tctgaaggt  | gtttttgtgt  | ttaatggcac  | ttcttggttt  | attacacaga  | 4560 |
| ggaacttctt  | ttctccacaa | ataattacta  | cagacaatac  | atgtgtctca  | ggaaattgtg  | 4620 |
| atgtcgttat  | tggcatcatt | aacaacacag  | tttatgatcc  | tctgcaacct  | gagcttgact  | 4680 |
| cattcaaaga  | agagctggac | aagtacttca  | aaaatcatac  | atcaccagat  | gttgattttg  | 4740 |
| gcgacatttc  | aggcattaac | gcttctgtcg  | tcaacattca  | aaaagaaatt  | gaccgcctca  | 4800 |
| atgaggtcgc  | taaaaattta | aatgaatcac  | tcattgacct  | tcaagaactg  | ggaaaatatg  | 4860 |
| agcaatatat  | taaatggcct | ctcgacgaac  | aaaaactcat  | ctcagaagag  | gatctgaatg  | 4920 |
| ctgtggggcca | ggacacgcag | gaggtcatcg  | tggtgccaca  | ctccttgccc  | tttaaggtgg  | 4980 |
| tggtgatctc  | agccatcctg | gccctggtgg  | tgctcaccat  | catctccctt  | atcatcctca  | 5040 |
| tcatgctttg  | gcagaagaag | ccacgttagg  | cggccgctcg  | agtgttagca  | ccaagggccc  | 5100 |
| cagcgtgttc  | cccctggccc | ccagcagcaa  | gagcaccagc  | ggcggcacag  | ccgccctggg  | 5160 |
| ctgcctggtg  | aaggactact | tccccgagcc  | cgtgaccgtg  | agctggaaca  | gcggcgctt   | 5220 |
| gaccagcggc  | gtgcacacct | tccccgccgt  | gctgcagagc  | agcggcctgt  | acagcctgag  | 5280 |
| cagcgtggtg  | accgtgccc  | gcagcagcct  | gggcaccag   | acctacatct  | gcaacgtgaa  | 5340 |
| ccacaagccc  | agcaacacca | aggtggacaa  | acgcgtggag  | ccaagagct   | gcgacaagac  | 5400 |
| ccacacctgc  | ccccctgcc  | ctgccccga   | gctgctgggc  | ggaccctccg  | tgttccctgtt | 5460 |
| ccccccaag   | ccaaggaca  | ccctcatgat  | cagccggacc  | cccaggtga   | cctgcgtggt  | 5520 |
| ggtggacgtg  | agccacgagg | accccgaggt  | gaagttcaac  | tggtacgtgg  | acggcgtgga  | 5580 |
| ggtgcacaac  | gccaagacca | agccccggga  | ggagcagtac  | aacagcacct  | accgggtggt  | 5640 |
| gagcgtgctc  | accgtgctgc | accaggactg  | gctgaacggc  | aaggagtaca  | agtgcagggt  | 5700 |
| gagcaacaag  | gccctgcctg | ccccatcga   | gaagaccatc  | agcaaggcca  | agggccagcc  | 5760 |
| ccgggagccc  | caggtgtaca | ccctgcccc   | cagccgggag  | gagatgacca  | agaaccaggt  | 5820 |
| gtccctcacc  | tgtctggtga | agggtttcta  | ccccagcgac  | atcgccgtgg  | agtgggagag  | 5880 |
| caacggccag  | cccgagaaca | actacaagac  | cacccccct   | gtgctggaca  | gcgacggcag  | 5940 |
| cttcttcctg  | tacagcaagc | tcaccgtgga  | caagagccgg  | tggcagcagg  | gcaacgtgtt  | 6000 |
| cagctgcagc  | gtgatgcacg | aggccctgca  | caaccactac  | accagaaga   | gcctgagcct  | 6060 |
| gagccccggc  | aagtgataat | ctagagggcc  | cgtttaaacc  | cgctgatcag  | cctcgactgt  | 6120 |
| gccttctagt  | tgccagccat | ctgttggttg  | cccctcccc   | gtgccttctt  | tgaccctgga  | 6180 |
| aggtgccact  | cccactgtcc | tttcctaata  | aatgaggaa   | attgcatcgc  | attgtctgag  | 6240 |
| taggtgtcat  | tctattctgg | ggggtgggt   | ggggcaggac  | agcaaggggg  | aggattggga  | 6300 |
| agacaatagc  | aggcatgctg | gggatgcgtt  | gggtcttatg  | gcttctgagg  | cggaaagaac  | 6360 |
| cagctggggc  | tctaggggg  | atccccacgc  | gccctgtagc  | ggcgcattaa  | gcgcggcggg  | 6420 |
| tgtggtggtt  | acgcgcagcg | tgaccgttac  | acttgccagc  | gccctagcgc  | ccgtcccttt  | 6480 |
| cgctttcttc  | ccttcctttc | tcgccacgtt  | cgcgggcttt  | cccgtcaag   | ctctaaatcg  | 6540 |
| ggggctccct  | ttaggggtcc | gatttagtgc  | tttacggcac  | ctcgacccca  | aaaaacttga  | 6600 |
| ttaggggtgat | ggttcacgta | gtggggccatc | gccctgatag  | acgggtttttc | gccctttgac  | 6660 |
| gttgaggtcc  | acgttcttta | atagtggact  | cttggttccaa | actggaacaa  | cactcaaccc  | 6720 |
| tatctcggtc  | tattcttttg | atttataagg  | gattttgccc  | atttcggcct  | attggttaaa  | 6780 |

|            |             |             |             |             |             |      |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| aaatgagctg | atttaacaaa  | aatttaacgc  | gaattaattc  | tgtggaatgt  | gtgtcagtta  | 6840 |
| gggtgtggaa | agtccccagg  | ctccccagca  | ggcagaagta  | tgcaaagcat  | gcatctcaat  | 6900 |
| tagtcagcaa | ccagggtgtg  | aaagtcccca  | ggctccccag  | caggcagaag  | tatgcaaagc  | 6960 |
| atgcatctca | attagtcagc  | aaccatagtc  | ccgcccctaa  | ctccgcccct  | cccgccccta  | 7020 |
| actccgcccc | gttccgcccc  | ttctccgccc  | catggctgac  | taatTTTTTT  | tatttatgca  | 7080 |
| gaggccgagg | ccgcctctgc  | ctctgagcta  | ttccagaagt  | agtgaggagg  | cttttttgga  | 7140 |
| ggcctaggct | tttgcaaaaa  | gctcccggga  | gcttgatat   | ccattttcgg  | atctgatcaa  | 7200 |
| gagacaggat | gaggatcggt  | tcgcatgatt  | gaacaagatg  | gattgcacgc  | aggttctccg  | 7260 |
| gccgcttggg | tggagaggct  | attcggctat  | gactgggcac  | aacagacaat  | cggctgctct  | 7320 |
| gatgccgcg  | tgttccggct  | gtcagcgcag  | ggcgccccgg  | ttctttttgt  | caagaccgac  | 7380 |
| ctgtccggtg | ccctgaatga  | actgcaggac  | gaggcagcgc  | ggctatcgtg  | gctggccacg  | 7440 |
| acgggcggtt | cttgccgcagc | tgtgctcgac  | gttgtcactg  | aagcgggaag  | ggactggctg  | 7500 |
| ctattgggcg | aagtgccggg  | gcaggatctc  | ctgtcatctc  | accttgctcc  | tgccgagaaa  | 7560 |
| gtatccatca | tggctgatgc  | aatgcggcgg  | ctgcatacgc  | ttgatccggc  | tacctgcccc  | 7620 |
| ttcgaccacc | aagcgaaaca  | tcgcatcgag  | cgagcacgta  | ctcggatgga  | agccgggtctt | 7680 |
| gtcgatcagg | atgatctgga  | cgaagagcat  | caggggctcg  | cgccagccga  | actgttcgcc  | 7740 |
| aggctcaagg | cgcgcgatgc  | cgacggcgag  | gatctcgctg  | tgacccatgg  | cgatgcctgc  | 7800 |
| ttgccgaata | tcatggtgga  | aaatggccgc  | ttttctggat  | tcatcgactg  | tggccggctg  | 7860 |
| ggtgtggcgg | accgctatca  | ggacatagcg  | ttggctaccc  | gtgatattgc  | tgaagagctt  | 7920 |
| ggcggcgaat | gggctgaccg  | cttcctcgctg | ctttacggta  | tcgccgctcc  | cgattcgcag  | 7980 |
| cgcctgcct  | tctatcgct   | tcttgacgag  | ttcttctgag  | cgggactctg  | gggttcgaaa  | 8040 |
| tgaccgacca | agcgacgccc  | aacctgccat  | cacgagattt  | cgattccacc  | gccgccttct  | 8100 |
| atgaaagggt | gggcttcgga  | atcgttttcc  | gggacgccgg  | ctggatgatc  | ctccagcgcg  | 8160 |
| gggatctcat | gctggagtgc  | ttcgcccacc  | ccaacttggt  | tattgcagct  | tataatgggt  | 8220 |
| acaaataaag | caatagcatc  | acaaatttca  | caaataaagc  | atttttttca  | ctgcattcta  | 8280 |
| gttgtgggtt | gtccaaaactc | atcaatgtat  | cttatcatgt  | ctgtataaccg | tcgacctcta  | 8340 |
| gctagagctt | ggcgtaata   | tggctatagc  | tgtttcctgt  | gtgaaattgt  | tatccgctca  | 8400 |
| caattccaca | caacatacga  | gccggaagca  | taaagtgtaa  | agcctggggg  | gcctaatgag  | 8460 |
| tgagctaact | cacattaatt  | gcgttgcgct  | cactgccccg  | tttccagctg  | ggaaacctgt  | 8520 |
| cgtgccagct | gcattaatga  | atcggccaac  | gcgcggggag  | aggcggtttg  | cgtattgggc  | 8580 |
| gctcttccgc | ttcctcgctc  | actgactcgc  | tgcgctcggt  | cgttcggctg  | cggcgagcgg  | 8640 |
| tatcagctca | ctcaaaggcg  | gtaatacgg   | tatccacaga  | atcaggggat  | aacgcaggaa  | 8700 |
| agaacatgtg | agcaaaaagg  | cagcaaaaag  | ccaggaaccg  | taaaaaggcc  | gcgttgctgg  | 8760 |
| cgtttttcca | taggctccgc  | ccccctgacg  | agcatcacia  | aaatcgacgc  | tcaagtcaga  | 8820 |
| ggtggcgaaa | cccgacagga  | ctataaagat  | accaggcggt  | tccccctgga  | agctccctcg  | 8880 |
| tgcgctctcc | tgttccgacc  | ctgccgctta  | ccggatacct  | gtccgccttt  | ctcccttcgg  | 8940 |
| gaagcggtgg | gctttctcat  | agctcacgct  | gtaggatatct | cagttcgggtg | taggtcgttc  | 9000 |
| gctccaagct | gggctgtgtg  | cacgaacccc  | ccgttcagcc  | cgaccgctgc  | gccttatccg  | 9060 |
| gtaactatcg | tcttgagtcc  | aaccgggtaa  | gacacgactt  | atcgccactg  | gcagcagcca  | 9120 |
| ctggtaacag | gattagcaga  | gcgaggatat  | taggcgggtgc | tacagagttc  | ttgaagtgg   | 9180 |
| ggcctaacta | cggctacact  | agaagaacag  | tatttggtat  | ctgcgctctg  | ctgaagccag  | 9240 |

```

ttacottcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggttagcg 9300
gtttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt 9360
tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa ctcacgttaa gggattttgg 9420
tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta 9480
aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagtg 9540
aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat agttgcctga ctccccgtcg 9600
tgtagataac tacgatacgg gagggcttac catctggccc cagtgcctga atgataccgc 9660
gagacccacg ctcaccggct ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc ggaagggccg 9720
agcgcagaag tggctcctga actttatccg cctccatcca gtctattaat tgttgccggg 9780
aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa cgttggtgcc attgctacag 9840
gcatcgtggt gtcacgctcg tcgtttggta tggcttcatt cagctccggg tcccaacgat 9900
caaggcgagt tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaaagc ggtagctcc tcgggtcctc 9960
cgatcgttgt cagaagtaag ttggcgcgag tggtatcact catggttatg gcagcactgc 10020
ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa gatgcttttc tgtgactggg gagtactcaa 10080
ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc gaccgagttg ctcttgcccg gcgtcaatac 10140
gggataatac cgcgccacat agcagaactt taaaagtgtc catcattgga aaacgttctt 10200
cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc cagttcgatg taaccactc 10260
gtgcacccaa ctgatcttca gcatctttta ctttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa 10320
caggaaggca aaatgccgca aaaaagggaa taagggcgac acggaaatgt tgaatactca 10380
tactcttcct ttttcaatat tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat 10440
acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa 10500
aagtgccacc tgacg 10515

```

Vecto pIg-C909-Ckapa (SEQ ID NO:191)

```

tcgacggatc gggagatctc ccgatcccct atggtgcact ctcagtacaa tctgctctga 60
tgccgcatag ttaagccagt atctgctccc tgcttggtgtg ttggaggctg ctgagtagtg 120
cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggccttgacc gacaattgtt aattaacatg 180
aagaatctgc ttaggggttag gcgttttgcg ctgcttcgct aggtgggtcaa tattggccat 240
tagccatatt attcattggg tatatagcat aaatcaatat tggctattgg ccattgcata 300
cgttgatatc atatcataat atgtacattt atattggctc atgtccaaca ttaccgccat 360
gttgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata 420
gcccataatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgccct ggctgaccgc 480
ccaacgaccc ccgccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag 540
ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgccac ttggcagtac 600
atcaagtgtg tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggg aaatggcccc 660
cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg 720
tattagtcac cgctattacc atggtgatgc ggttttgcca gtacatcaat gggcggtggat 780
agcggtttga ctcaogggga tttccaagtc tccaccccat tgacgtcaat gggagtttgt 840
tttggcacca aaatcaacgg gactttccaa aatgtcgtaa caactccgcc ccattgacgc 900
aaatgggcgg taggcgtgta cgggtggagg tctatataag cagagctcgt ttagtgaacc 960
gtcagatcgc ctggagacgc catccaogct gttttgacct ccatagaaga caccgggacc 1020

```

|            |             |            |            |            |            |      |
|------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------|
| gatccagcct | ccgcggcccg  | gaacggtgca | ttggaatcga | tgactctctt | aggtagcctt | 1080 |
| gcagaagttg | gtcgtgaggc  | actgggcagg | taagtatcaa | ggttacaaga | caggtttaag | 1140 |
| gagatcaata | gaaactgggc  | ttgtcgagac | agagaagact | cttgcgtttc | tgataggcac | 1200 |
| ctattggtct | tactgacatc  | cactttgcct | ttctctccac | aggtgtccac | tcccagttca | 1260 |
| attacagctc | gccaccatgc  | ggctgcccgc | ccagctgctg | ggccttctca | tgctgtgggt | 1320 |
| gcccgcctcg | agatctatcg  | atgcatgcc  | tggtaccaag | cttgccacca | tgagcagcag | 1380 |
| ctcttggtg  | ctgctgagcc  | tggaggccgt | gacagccgcc | cagagcacca | tgcaggagca | 1440 |
| ggccaagacc | ttcctggaca  | agttcaacca | cgaggccgag | gacctgttct | accagagcag | 1500 |
| cctggccagc | tggaaactaca | acaccaacat | caccgaggag | aacgtgcaga | acatgaacaa | 1560 |
| cgcggcgac  | aagtggagcg  | ccttcctgaa | ggagcagagc | acactggccc | agatgtaccc | 1620 |
| cctgcaggag | atccagaacc  | tgaccgtgaa | gctgcagctg | caggccctgc | agcagaacgg | 1680 |
| cagcagcgtg | ctgagcgagg  | acaagagcaa | gcggctgaac | accatcctga | acaccatgtc | 1740 |
| caccatctac | agcaccggca  | aagtgtgcaa | ccccgacaac | ccccaggagt | gcctgctgct | 1800 |
| ggagcccggc | ctgaacgaga  | tcatggccaa | cagcctggac | tacaacgagc | ggctgtgggc | 1860 |
| ctgggagagc | tggcggagcg  | aagtgggcaa | gcagctgcgg | cccctgtacg | aggagtacgt | 1920 |
| ggtgctgaag | aacgagatgg  | ccagggccaa | ccactacgag | gactacggcg | actactggag | 1980 |
| aggcgactac | gaagtgaacg  | gcgtggacgg | ctacgactac | agcagaggcc | agctgatcga | 2040 |
|            |             |            |            |            |            |      |
| ggacgtggag | cacaccttcg  | aggagatcaa | gcctctgtac | gagcacctgc | acgcctacgt | 2100 |
| gcgggccaa  | ctgatgaacg  | cctaccccag | ctacatcagc | cccatcggt  | gcctgcccgc | 2160 |
| ccacctgctg | ggcgacatgt  | ggggccgggt | ctggaccaac | ctgtacagcc | tgaccgtgcc | 2220 |
| cttcggccag | aagcccaaca  | tcgacgtgac | cgacgccatg | gtggaccagg | cctgggacgc | 2280 |
| ccagcggatc | ttcaaggagg  | ccgagaagtt | cttcgtgagc | gtgggcctgc | ccaacatgac | 2340 |
| ccagggcttt | tgggagaaca  | gcatgctgac | cgaccccggc | aatgtgcaga | aggccgtgtg | 2400 |
| ccaccccacc | gcctgggacc  | tgggcaagg  | cgacttccgg | atcctgatgt | gcaccaaagt | 2460 |
| gaccatggac | gacttcctga  | ccgcccacca | cgagatgggc | cacatccagt | acgacatggc | 2520 |
| ctacgccgcc | cagcccttcc  | tgctgcggaa | cggcgccaac | gagggcttct | acgaggccgt | 2580 |
| gggcgagatc | atgagcctga  | gcgcgcgcc  | ccccaaagac | ctgaagagca | tggcctgct  | 2640 |
| gagccccgac | ttccaggagg  | acaacgagac | cgagatcaac | ttcctgctga | agcaggccct | 2700 |
| gaccatcgtg | ggcaccctgc  | ccttcacct  | catgctggag | aagtggcggt | ggatggtgtt | 2760 |
| taagggcgag | atccccaagg  | accagtggat | gaagaagtgg | tgggagatga | agcgggagat | 2820 |
| cgtgggcgtg | gtggagcccg  | tgccccacga | cgagacctac | tgcgaccccg | ccagcctgtt | 2880 |
| ccacgtgagc | aacgactact  | ccttcctccg | gtactacacc | cggaccctgt | accagttcca | 2940 |
| gttccaggag | gccctgtgcc  | aggccgccaa | gcacgagggc | cccctgcaca | agtgcgacat | 3000 |
| cagcaacagc | accgaggccg  | gacagaaact | gttcaacatg | ctgcggctgg | gcaagagcga | 3060 |
| gccctggacc | ctggccctgg  | agaatgtggt | gggcgccaag | aacatgaatg | tgcgccccct | 3120 |
| gctgaactac | ttcgagcccc  | tgttcacctg | gctgaaggac | cagaacaaga | acagcttctg | 3180 |
| gggctggagc | accgactgga  | gcccctacgc | cgaccagagc | atcaaagtgc | ggatcagcct | 3240 |
| gaagagcgcc | ctgggcgaca  | aggcctacga | gtggaacgac | aacgagatgt | acctgttccg | 3300 |
| gagcagcgtg | gcctatgcca  | tgcggcagta | cttcctgaaa | gtgaagaacc | agatgatcct | 3360 |
| gttcggcgag | gaggacgtga  | gagtggccaa | cctgaagccc | cggatcagct | tcaacttctt | 3420 |

|            |            |            |             |            |             |      |
|------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|------|
| cgtgaccgcc | cccaagaacg | tgagcgacat | catcccccg   | accgaagtgg | agaaggccat  | 3480 |
| ccgatgagc  | cggagccgga | tcaacgacgc | cttcgggctg  | aacgacaact | ccctggagtt  | 3540 |
| cctgggcatc | cagccccacc | tgggcccctc | caaccagccc  | cccgtgagca | tctggctgat  | 3600 |
| cgtgtttggc | gtggtgatgg | gcgtgatcgt | ggtgggaatc  | gtgatcctga | tcttcaccgg  | 3660 |
| catccgggac | cggaagaaga | agaacaaggc | ccggagcggc  | gagaaccctt | acgccagcat  | 3720 |
| cgatatcagc | aagggcgaga | acaaccccg  | cttcacagaac | accgacgacg | tgacagaccg  | 3780 |
| cttctgataa | tctagaacga | gctcgaattc | gaagcttctg  | cagacgcgtc | gacgtcatat  | 3840 |
| ggatccgata | tgcgcgtggc | ggccgcaccc | agcgtgttca  | tcttcccccc | ctccgacgag  | 3900 |
| cagctgaaga | gcggcaccgc | cagcgtggtg | tgcttctgta  | acaacttcta | ccccggggag  | 3960 |
| gccaaggtgc | agtggaaggt | ggacaacgcc | ctgcagagcg  | gcaacagcca | ggagagcgtg  | 4020 |
| accgagcagg | acagcaagga | ctccacctac | agcctgagca  | gcaccctcac | cctgagcaag  | 4080 |
| gccgactacg | agaagcacia | ggtgtacgcc | tgcgagggtga | cccaccaggg | cctgagcagc  | 4140 |
| cccgtgacca | agagcttcaa | ccggggcgag | tgtaatatga  | cttaagttaa | aaccgctgat  | 4200 |
| cagcctcgac | tgtgccttct | agttgccagc | catctgttgt  | ttgcccctcc | cccgctgcctt | 4260 |
| ccttgaccct | ggaaggtgcc | actcccactg | tcctttccta  | ataaaatgag | gaaattgcat  | 4320 |
| cgcattgtct | gagtaggtgt | cattctattc | tgggggggtg  | ggtggggcag | gacagcaagg  | 4380 |
| gggaggattg | ggaagacaat | agcaggcatg | ctgggggatg  | ggtgggctct | atggcttctg  | 4440 |
| aggcggaag  | aaccagctgg | ggctctaggg | ggtatcccca  | cgcgccttgt | agcggcgcat  | 4500 |
| taagcgcggc | gggtgtggtg | gttaocgcga | gcgtgaccgc  | tacacttgcc | agcgccttag  | 4560 |
| cgcgcgtccc | tttcgctttc | ttcccttcct | ttctcgccac  | gttcgcgcgg | tttcccgcgtc | 4620 |
| aagctctaaa | tcgggggctc | ccttttaggg | tccgatttag  | tgctttacgg | cacctcgacc  | 4680 |
| ccaaaaaact | tgattagggg | gatggttcac | gtagtggggc  | atcgccctga | tagacggttt  | 4740 |
| ttcgcccttt | gacgttggag | tcacgcttct | ttaatagtgg  | actcttggtc | caaactggaa  | 4800 |
| caacactcaa | ccctatctcg | gtctattctt | ttgatttata  | agggattttg | gccatttcgg  | 4860 |
| cctattgggt | aaaaaatgag | ctgatttaac | aaaaatttaa  | cgcgaattaa | ttctgtggaa  | 4920 |
| tgtgtgtcag | ttagggtgtg | gaaagtcccc | aggctcccca  | gcaggcagaa | gtatgcaaag  | 4980 |
| catgcatctc | aattagtcag | caaccagggt | tggaaggtcc  | ccaggctccc | cagcaggcag  | 5040 |
| aagtatgcaa | agcatgcac  | tcaattagtc | agcaaccata  | gtcccgcccc | taactccgcc  | 5100 |
| catcccgcgc | ctaactccgc | ccagttccgc | ccattctccg  | ccccatggct | gactaatttt  | 5160 |
| ttttatttat | gcagaggccg | aggccgcctc | tgctcttgag  | ctattccaga | agtagtgagg  | 5220 |
| aggctttttt | ggaggcctag | gcttttgcaa | aaagctcccg  | ggagcttgta | tatccatttt  | 5280 |
| cggatctgat | cagcacgtga | tgaaaaagcc | tgaactcacc  | gcgacgtctg | tcgagaagtt  | 5340 |
| tctgatcgaa | aagttcgaca | gcgtctccga | cctgatgcag  | ctctcggagg | gcgaagaatc  | 5400 |
| tcgtgctttc | agcttcgatg | taggagggcg | tgatatgttc  | ctgcgggtaa | atagctgcgc  | 5460 |
| cgatggtttc | tacaaagatc | gttatgttta | tcggcacttt  | gcacggcccg | cgcctccgat  | 5520 |
| tccggaagtg | cttgacattg | gggaattcag | cagagagcct  | acctattgca | tctcccgcgc  | 5580 |
| tgacacaggt | gtcacgttgc | aagacctgcc | tgaaaccgaa  | ctgcccgcgt | ttctgcagcc  | 5640 |
| ggtcgcggag | gccatgggat | cgatcgctgc | ggccgatctt  | agccagacga | gcgggttcgg  | 5700 |
| cccattcgga | ccacaaggaa | tcggtcaata | cactacatgg  | cgtgatttca | tatgcgcgat  | 5760 |
| tgctgatccc | catgtgtatc | actggcaaac | tgtgatggac  | gacaccgtca | gtgcgtccgt  | 5820 |

|             |            |            |             |            |             |      |
|-------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|------|
| cgcgagggct  | ctcgatgagc | tgatgctttg | ggccgaggac  | tgccccgaag | tccggcacct  | 5880 |
| cgtgcacgcy  | gatttcggct | ccaacaatgt | cctgacggac  | aatggccgca | taacagcggt  | 5940 |
| cattgactgg  | agcgaggcga | tgttcgggga | ttcccaatac  | gaggtcgcca | acatcttctt  | 6000 |
| ctggaggccg  | tggttggtt  | gtatggagca | gcagacgcgc  | tacttcgagc | ggaggcatcc  | 6060 |
| ggagcttgca  | ggatcgccgc | ggctccgggc | gtatatgctc  | cgcatctggc | ttgaccaact  | 6120 |
| ctatcagagc  | ttggttgacg | gcaatttcga | tgatgcagct  | tgggcgaggg | gtcgatgcga  | 6180 |
| cgcaatcgct  | cgatccggag | ccgggactgt | cgggcgtaga  | caaatcgccc | gcagaagcgc  | 6240 |
| ggccgtctgg  | accgatggct | gtgtagaagt | actcgccgat  | agtggaaacc | gacgccccag  | 6300 |
| cactcgctcc  | agggcaaagg | aatagcacgt | gctacgagat  | ttcgattcca | ccgccgcctt  | 6360 |
| ctatgaaagg  | ttgggcttcg | gaatcgtttt | ccgggacgcc  | ggctggatga | tcctccagcg  | 6420 |
| cggggatctc  | atgctggagt | tcttcgcccc | ccccaaactg  | tttattgcag | cttataatgg  | 6480 |
| ttacaaataa  | agcaatagca | tcacaaattt | cacaaataaa  | gcattttttt | cactgcattc  | 6540 |
| tagttgtggt  | ttgtccaaac | tcatcaatgt | atcttatcat  | gtctgtatac | cgtcgacctc  | 6600 |
| tagctagagc  | ttggcgtaat | catggtcata | gctgtttcct  | gtgtgaaatt | gttatccgct  | 6660 |
| cacaattcca  | cacaacatac | gagccggaag | cataaagtgt  | aaagcctggg | gtgcctaata  | 6720 |
| agttagctaa  | ctcacattaa | ttgcgttgcg | ctcactgccc  | gctttccagt | cgggaaacct  | 6780 |
| gtcgtgccag  | ctgcattaat | gaatcggcc  | acgcgcgggg  | agaggcggtt | tgcgtattgg  | 6840 |
| gcgctcttcc  | gcttcctcgc | tactgactc  | gctgcgctcg  | gtcgttcggc | tgcggcgagc  | 6900 |
| ggtatcagct  | cactcaaagg | cggtaatagc | gttatccaca  | gaatcagggg | ataacgcagg  | 6960 |
| aaagaacatg  | tgagcaaaa  | gccagcaaaa | ggccagggaac | cgtaaaaagg | ccgcgttgct  | 7020 |
| ggcgtttttc  | cataggctcc | gccccctga  | cgagcatcac  | aaaaatcgac | gctcaagtca  | 7080 |
| gaggtggcga  | aacccgacag | gactataaag | ataccaggcg  | tttccccctg | gaagctccct  | 7140 |
| cgtgcgctct  | cctgttccga | ccctgccgct | taccggatac  | ctgtccgcct | ttctcccttc  | 7200 |
| gggaagcgty  | gcgctttctc | atagctcacg | ctgtagggtat | ctcagttcgg | tgtaggtcgt  | 7260 |
| tcgctccaag  | ctgggctgtg | tgcacgaacc | ccccgttcag  | cccgaccgct | gcgccttata  | 7320 |
| cggtaaactat | cgtcttgagt | ccaaccgggt | aagacacgac  | ttatcgccac | tggcagcagc  | 7380 |
| cactggtaac  | aggattagca | gagcgaggta | tgtaggcggt  | gctacagagt | tcttgaagtg  | 7440 |
| gtggcctaac  | tacggctaca | ctagaagaac | agtattttgt  | atctgcgctc | tgctgaagcc  | 7500 |
| agttaccttc  | ggaaaaagag | ttggtagctc | ttgatccggc  | aaacaaacca | ccgctggtag  | 7560 |
| cggttttttt  | gtttgcaagc | agcagattac | gcgcagaaaa  | aaaggatctc | aagaagatcc  | 7620 |
| tttgatcttt  | tctacggggt | ctgacgctca | gtggaacgaa  | aactcacggt | aagggttttt  | 7680 |
| ggtcatgaga  | ttatcaaaaa | ggatcttcac | ctagatcctt  | ttaaattaaa | aatgaagttt  | 7740 |
| taaatcaatc  | taaagtatat | atgagtaaac | ttggtctgac  | agttaccaat | gcttaatcag  | 7800 |
| tgaggcacct  | atctcagcga | tctgtctatt | togttcatcc  | atagttgcct | gactccccgt  | 7860 |
| cgtgtagata  | actacgatac | gggagggtt  | accatctggc  | cccagtgcgt | caatgatacc  | 7920 |
| gcgagacca   | cgctcaccgg | ctccagattt | atcagcaata  | aaccagccag | ccggaagggc  | 7980 |
| cgagcgcaga  | agtggctcct | caactttatc | cgcctccatc  | cagtctatta | attgttgccg  | 8040 |
| ggaagctaga  | gtaagtagtt | cgccagttaa | tagtttgccg  | aacgttggtg | ccattgctac  | 8100 |
| aggcatcgty  | gtgtcacgct | cgctggtttg | tatggcttca  | ttcagctccg | gttcccaacg  | 8160 |
| atcaaggcga  | gttacatgat | ccccatggt  | gtgcaaaaaa  | gcggttagct | ccttcgggtcc | 8220 |
| tccgatcggt  | gtcagaagta | agttggccgc | agtgttatca  | ctcatggtta | tggcagcact  | 8280 |

|            |            |            |            |            |             |      |
|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------|
| gcataattct | cttactgtca | tgccatccgt | aagatgcttt | tctgtgactg | gtgagtactc  | 8340 |
| aaccaagtca | ttctgagaat | agtgtatgcg | gcgaccgagt | tgctcttgcc | cggcgtcaat  | 8400 |
| acgggataat | accgcgccac | atagcagaac | tttaaaagtg | ctcatcattg | gaaaacgttc  | 8460 |
| ttcggggcga | aaactctcaa | ggatcttacc | gctgttgaga | tccagttcga | tgtaacccac  | 8520 |
| tcgtgcaccc | aactgatctt | cagcatcttt | tactttcacc | agcgtttctg | ggtgagcaaa  | 8580 |
| aacaggaagg | caaaatgccg | caaaaaaggg | aataagggcg | acacggaaat | gttgaatact  | 8640 |
| catactcttc | ctttttcaat | attattgaag | catttatcag | ggttattgtc | tcattgagcgg | 8700 |
| atacatattt | gaatgtattt | agaaaaataa | acaaataggg | gttccgcgca | catttccccg  | 8760 |
| aaaagtgcc  | cctgacg    |            |            |            |             | 8777 |

Vecto pIg-C910-Clamda (SEQ ID NO:192)

|            |            |            |            |             |            |      |
|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|------|
| tcgacggatc | gggagatctc | ccgatcccct | atggtgcact | ctcagtacaa  | tctgctctga | 60   |
| tgccgcatag | ttaagccagt | atctgctccc | tgcttgtgtg | ttggagggtcg | ctgagtagtg | 120  |
| cgcgagcaaa | atttaagcta | caacaaggca | aggcttgacc | gacaattggt  | aattaacatg | 180  |
| aagaatctgc | ttagggttag | gcgttttgcg | ctgcttcgct | aggtggtcaa  | tattggccat | 240  |
| tagccatatt | attcattggg | tatatagcat | aatcaatat  | tggctattgg  | ccattgcata | 300  |
| cgttgatcc  | atatcataat | atgtacattt | atattggctc | atgtccaaca  | ttaccgccat | 360  |
| gttgacattg | attattgact | agttattaat | agtaatcaat | tacgggggtca | ttagttcata | 420  |
| gcccataat  | ggagttccgc | gttacataac | ttacggtaaa | tggcccgct   | ggctgaccgc | 480  |
| ccaacgacct | ccgccattg  | acgtcaataa | tgacgtatgt | tcccatagta  | acgccaatag | 540  |
| ggactttcca | ttgacgtcaa | tgggtggagt | atttacggta | aactgccac   | ttggcagtac | 600  |
| atcaagtgt  | tcatatgcc  | agtacgccc  | ctattgacgt | caatgacggg  | aatggcccg  | 660  |
| cctggcatta | tgcccagtac | atgaccttat | gggactttcc | tacttggcag  | tacatctacg | 720  |
| tattagtc   | cgctattacc | atggtgatgc | ggttttggca | gtacatcaat  | gggcgtggat | 780  |
| agcggtttga | ctcacgggga | tttccaagtc | tccaccccat | tgacgtcaat  | gggagtttgt | 840  |
| tttggcacca | aatcaacgg  | gactttccaa | aatgtcgtaa | caactccgcc  | ccattgacgc | 900  |
| aatgggagg  | taggcgtgt  | cgggtggagg | tctatataag | cagagctcgt  | ttagtgaacc | 960  |
| gtcagatcgc | ctggagacgc | catccacgct | gttttgacct | ccatagaaga  | caccgggacc | 1020 |
| gatccagcct | ccgcggccgg | gaacggtgca | ttggaatcga | tgactctctt  | aggtagcctt | 1080 |
| gcagaagtgt | gtcgtgaggc | actgggcagg | taagtatcaa | ggttacaaga  | caggtttaag | 1140 |
| gagatcaata | gaaactgggc | ttgtcgagac | agagaagact | cttgcgtttc  | tgataggcac | 1200 |
| ctattggtct | tactgacatc | cactttgcct | ttctctccac | aggtgtccac  | tcccagttca | 1260 |
| attacagctc | gccaccatgc | ggttctccgc | tcagctgctg | ggccttctgg  | tgctgtggat | 1320 |
| tcccggcgtc | tcgagatcta | tcgatgcatg | ccatggtacc | aagcttgcca  | ccatgagcag | 1380 |
| cagctcttgg | ctgctgctga | gcctggtggc | cgtgacagcc | gccagagca   | ccatcgagga | 1440 |
| gcaggccaag | accttcctgg | acaagttcaa | ccacgaggcc | gaggacctgt  | tctaccagag | 1500 |
| cagcctggcc | agctggaact | acaacaccaa | catcaccgag | gagaacgtgc  | agaacatgaa | 1560 |
| caacgccggc | gacaagtgga | gcgccttcct | gaaggagcag | agcacactgg  | cccagatgta | 1620 |
| cccctgcag  | gagatccaga | acctgaccgt | gaagctgcag | ctgcaggccc  | tgcagcagaa | 1680 |
| cggcagcagc | gtgctgagcg | aggacaagag | caagcggctg | aacaccatcc  | tgaacaccat | 1740 |
| gtccaccatc | tacagcaccg | gcaaagtgtg | caaccccgac | aacccccagg  | agtgcctgct | 1800 |

|             |             |             |            |            |             |      |
|-------------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|------|
| gctggagccc  | ggcctgaacg  | agatcatggc  | caacagcctg | gactacaacg | agcggctgtg  | 1860 |
| ggcctgggag  | agctggcgga  | gcgaagtggg  | caagcagctg | cggcccctgt | acgaggagta  | 1920 |
| cgtggtgctg  | aagaacgaga  | tggccagggc  | caaccactac | gaggactacg | gcgactactg  | 1980 |
| gagagggcgac | tacgaagtga  | acggcggtga  | cggctacgac | tacagcagag | gccagctgat  | 2040 |
| cgaggacgtg  | gagcacacct  | tcgaggagat  | caagcctctg | tacgagcacc | tgcacgccta  | 2100 |
| cgtgcggggc  | aagctgatga  | acgcctaccc  | cagctacatc | agcccatcgc | gctgcctgcc  | 2160 |
| cgcccacctg  | ctggggcgaca | tgtggggcgc  | gttctggacc | aacctgtaca | gcctgaccgt  | 2220 |
| gcccttcggc  | cagaagccca  | acatcgacgt  | gaccgacgcc | atggtggacc | aggcctggga  | 2280 |
| cgcccagcgg  | atcttcaagg  | aggccgagaa  | gttcttcgtg | agcgtggggc | tgcccaacat  | 2340 |
| gaccagggc   | ttttgggaga  | acagcatgct  | gaccgacccc | ggcaatgtgc | agaaggccgt  | 2400 |
| gtgccacccc  | accgcctggg  | acctgggcaa  | gggcgacttc | cggatcctga | tgtgcaccaa  | 2460 |
| agtgaccatg  | gacgacttcc  | tgacgcgcca  | ccacgagatg | ggccacatcc | agtacgacat  | 2520 |
| ggcctacgcc  | gcccgacctt  | tcctgctgcg  | gaacggcgcc | aacgagggct | ttcacgaggc  | 2580 |
| cgtgggcgag  | atcatgagcc  | tgagcgccgc  | cacccccaa  | cacctgaaga | gcctcggcct  | 2640 |
| gctgagcccc  | gacttccagg  | aggacaacga  | gaccgagatc | aacttcctgc | tgaagcaggc  | 2700 |
| cctgaccatc  | gtgggcaccc  | tgcccttcac  | ctacatgctg | gagaagtggc | ggtggatggt  | 2760 |
| gtttaagggc  | gagatcccca  | aggaccagtg  | gatgaagaag | tggtgggaga | tgaagcggga  | 2820 |
| gatcgtgggc  | gtggtggagc  | cogtgcccca  | cgacgagacc | tactgcgacc | ccgccagcct  | 2880 |
| gttccacgtg  | agcaacgact  | actccttcac  | ccggtactac | acccggaccc | tgtaccagtt  | 2940 |
| ccagttccag  | gaggccctgt  | gccaggcgcc  | caagcacgag | ggccccctgc | acaagtgcga  | 3000 |
| catcagcaac  | agcaccgagg  | ccggacagaa  | actgttcaac | atgctgcggc | tgggcaagag  | 3060 |
| cgagccctgg  | accctggccc  | tggagaatgt  | ggtgggcgcc | aagaacatga | atgtgcgccc  | 3120 |
| cctgctgaac  | tacttcgagc  | ccctgttcac  | ctggctgaag | gaccagaaca | agaacagctt  | 3180 |
| cgtgggctgg  | agcaccgact  | ggagccccc   | cgccgaccag | agcatcaaag | tgcggatcag  | 3240 |
| cctgaagagc  | gccctggggc  | acaaggccca  | cgagtggaac | gacaacgaga | tgtacctgtt  | 3300 |
| ccggagcagc  | gtggccctat  | ccatgcggca  | gtacttcctg | aaagtgaaga | accagatgat  | 3360 |
| cctgttcggc  | gaggaggacg  | tgagagtggc  | caacctgaag | ccccggatca | gcttcaactt  | 3420 |
| cttcgtgacc  | gcccccaaga  | acgtgagcga  | catcatcccc | cggaccgaag | tggagaaggc  | 3480 |
| catccggatg  | agccggagcc  | ggatcaacga  | cgccttcggg | ctgaacgaca | actccctgga  | 3540 |
| gttcctgggc  | atccagccca  | ccctggggcc  | tcccaaccag | ccccccgtga | gcctctggct  | 3600 |
| gatcgtgttt  | ggcgtggtga  | tgggcgtgat  | cgtggtggga | atcgtgatcc | tgatcttcac  | 3660 |
| cggcatccgg  | gaccggaaga  | agaagaacaa  | ggcccgagac | ggcgagaacc | cctacgccag  | 3720 |
| catcgatatc  | agcaaggggc  | agaacaaccc  | cggcttcacg | aacaccgacg | acgtgcagac  | 3780 |
| cagcttctga  | taatctagaa  | cgagctcgaa  | ttcgaagctt | ctgcagacgc | gtcgacgtca  | 3840 |
| tatggatccg  | atatcgccgt  | ggcggcgcga  | ggccagccca | aggccgctcc | cagcgtgacc  | 3900 |
| ctgttcccc   | cctcctccga  | ggagctgcag  | gccacaagg  | ccaccctggt | gtgcctcatc  | 3960 |
| agcgacttct  | accctggcgc  | cgtgaccgtg  | gcctggaagg | ccgacagcag | ccccgtgaag  | 4020 |
| gccggcgtgg  | agaccaccac  | ccccagcaag  | cagagcaaca | acaagtacgc | cgccagcagc  | 4080 |
| tacctgagcc  | tcacccccga  | gcagtgggaag | agccaccgga | gctacagctg | ccaggtgacc  | 4140 |
| cacgagggca  | gcaccgtgga  | gaagaccgtg  | gcccccaacc | agtgcagcta | atagacttaa  | 4200 |
| gtttaaaccg  | ctgatcagcc  | tcgactgtgc  | cttctagtgt | ccagccatct | gttggtttgcc | 4260 |

|             |             |            |             |             |            |      |
|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|------|
| cctccccgt   | gccttccttg  | accctggaag | gtgccactcc  | cactgtcctt  | tcctaataaa | 4320 |
| atgaggaaat  | tgcacgcacat | tgtctgagta | ggtgtcattc  | tattctgggg  | ggtggggtgg | 4380 |
| ggcaggacag  | caagggggag  | gattgggaag | acaatagcag  | gcatgctggg  | gatgcggtgg | 4440 |
| gctctatggc  | ttctgaggcg  | gaaagaacca | gctggggctc  | tagggggtat  | ccccacgcgc | 4500 |
| cctgtagcgg  | cgcattaagc  | gcggcggtg  | tggtggttac  | gcgcagcgtg  | accgctacac | 4560 |
| ttgccagcgc  | cctagcgccc  | gctcctttcg | ctttcttccc  | ttcctttctc  | gccacgttcg | 4620 |
| ccggctttcc  | ccgtcaagct  | ctaaatcggg | ggctcccttt  | agggttccga  | tttagtgctt | 4680 |
| tacggcacct  | cgaccccaaa  | aaacttgatt | aggggtgatg  | ttcacgtagt  | gggccatcgc | 4740 |
| cctgatagac  | ggtttttcgc  | cctttgacgt | tggagtccac  | gttctttaat  | agtggactct | 4800 |
| tgttccaaac  | tggaacaaca  | ctcaacccta | tctcgggtcta | ttcttttgat  | ttataagggg | 4860 |
| ttttggccat  | ttcggcctat  | tggttaaaaa | atgagctgat  | ttaacaaaaa  | tttaacgcga | 4920 |
| attaattctg  | tggaatgtgt  | gtcagttagg | gtgtggaaag  | tcccaggct   | ccccagcagg | 4980 |
| cagaagtatg  | caaagcatgc  | atctcaatta | gtcagcaacc  | aggtgtggaa  | agtccccagg | 5040 |
| ctccccagca  | ggcagaagta  | tgcaaagcat | gcatctcaat  | tagtcagcaa  | ccatagtccc | 5100 |
| gcccctaact  | ccgcccattc  | cgcccctaac | tccgcccagt  | tccgcccatt  | ctccgcccc  | 5160 |
| tggtgacta   | atTTTTTTta  | tttatgcaga | ggccgaggcc  | gcctctgcct  | ctgagctatt | 5220 |
| ccagaagtag  | tgaggaggct  | tttttgagg  | cctaggcttt  | tgcaaaaagc  | tcccgggagc | 5280 |
| ttgtatatcc  | atTTTtcgat  | ctgatcagca | cgtgatgaaa  | aagcctgaac  | tcaccgcgac | 5340 |
| gtctgtcgag  | aagtTTctga  | tcgaaaagtt | cgacagcgtc  | tccgacctga  | tgcagctctc | 5400 |
| ggagggcgaa  | gaatctcgtg  | ctttcagctt | cgatgtagga  | ggcggtggat  | atgtcctgcg | 5460 |
| ggtaaatagc  | tgcgccgatg  | gtttctacaa | agatcggtat  | gtttatcggc  | actttgcctc | 5520 |
| ggccgcgctc  | ccgattccgg  | aagtgcctga | cattggggaa  | ttcagcgaga  | gcctgacct  | 5580 |
| ttgcatctcc  | cgccgtgcac  | aggggtgcac | gttgcaagac  | ctgcctgaaa  | ccgaactgcc | 5640 |
| cgtgtttctg  | cagccggtcg  | cggaggccat | ggatgcgatc  | gctgcggccg  | atcttagcca | 5700 |
| gacgagcggg  | ttcggcccat  | tcggaccgca | aggaatcggg  | caatacacta  | catggcgtga | 5760 |
| tttcatatgc  | gcgattgctg  | atccccatgt | gtatcactgg  | caaactgtga  | tggacgacac | 5820 |
| cgtcagtgcg  | tccgtcgcgc  | aggtctctga | tgagctgatg  | ctttggggccg | aggactgccc | 5880 |
| cgaagtccgg  | cacctcgtgc  | acgcggattt | cggctccaac  | aatgtcctga  | cggacaatgg | 5940 |
| ccgcataaca  | gcggtcattg  | actggagcga | ggcgatgttc  | ggggattccc  | aatacgaggt | 6000 |
| cgccaacatc  | ttcttctgga  | ggccgtggtt | ggcttgtatg  | gagcagcaga  | cgcgctactt | 6060 |
| cgagcggagg  | catccggagc  | ttgcaggatc | gccgcggctc  | cgggctgata  | tgctccgcat | 6120 |
| tggtcttgac  | caactctatc  | agagcttggg | tgacggcaat  | ttcgatgatg  | cagcttgggc | 6180 |
| gcagggtcga  | tgcgacgcaa  | tcgtccgatc | cggagccggg  | actgtcgggc  | gtacacaaat | 6240 |
| cgccgcgaga  | agcgcgccg   | tctggaccga | tggtgtgta   | gaagtactcg  | ccgatagtgg | 6300 |
| aaaccgacgc  | cccagcactc  | gtccgagggc | aaaggaatag  | cacgtgctac  | gagatttcga | 6360 |
| ttccaccgcc  | gccttctatg  | aaagggtggg | cttcggaatc  | gttttccggg  | acgccggctg | 6420 |
| gatgatcctc  | cagcgcgggg  | atctcatgct | ggagttcttc  | gccaccccca  | acttgtttat | 6480 |
| tgcagcttat  | aatggttaca  | aataaagcaa | tagcatcaca  | aatttcacaa  | ataaagcatt | 6540 |
| tttttcaactg | cattctagtt  | gtggtttgtc | caaactcatc  | aatgtatctt  | atcatgtctg | 6600 |
| tataccgtcg  | acctctagct  | agagcttggc | gtaatcatgg  | tcatagctgt  | ttcctgtgtg | 6660 |
| aaattgttat  | ccgctcacia  | ttccacacia | catacgagcc  | ggaagcataa  | agtgtaaagc | 6720 |

|             |             |             |            |             |             |      |
|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|------|
| ctggggtgcc  | taatgagtga  | gctaactcac  | attaattgcg | ttgcgctcac  | tgcccgcttt  | 6780 |
| ccagtcggga  | aacctgtcgt  | gccagctgca  | ttaatgaatc | ggccaacgcg  | cggggagagg  | 6840 |
| cggtttgct   | attgggcgct  | cttccgcttc  | ctcgctcact | gactcgctgc  | gctcggctcg  | 6900 |
| tcggctgcgg  | cgagcgggat  | cagctcactc  | aaaggcggta | atacggttat  | ccacagaatc  | 6960 |
| aggggataac  | gcaggaaaga  | acatgtgagc  | aaaaggccag | caaaaggcca  | ggaaccgtaa  | 7020 |
| aaaggccgcg  | ttgctggcgt  | ttttccatag  | gctccgcccc | cctgacgagc  | atcacaaaaa  | 7080 |
| tcgacgctca  | agtcagaggt  | ggcgaaaccc  | gacaggacta | taaagatacc  | aggcggtttcc | 7140 |
| ccctggaagc  | tccctcgtgc  | gctctcctgt  | tccgaccctg | ccgcttaccg  | gatacctgtc  | 7200 |
| cgcttttctc  | ccttcgggaa  | gcgtggcgct  | ttctcatagc | tcacgctgta  | ggtatctcag  | 7260 |
| ttcgggtgtag | gtcgttcgct  | ccaagctggg  | ctgtgtgcac | gaaccccccg  | ttcagccccga | 7320 |
| ccgctgcgcc  | ttatccggta  | actatcgtct  | tgagtccaac | ccggtaagac  | acgacttatc  | 7380 |
| gccactggca  | gcagccactg  | gtaacaggat  | tagcagagcg | aggatatgtag | gcggtgctac  | 7440 |
| agagtctctg  | aagtgggtggc | ctaactacgg  | ctacactaga | agaacagtat  | ttggtatctg  | 7500 |
| cgctctgctg  | aagccagtta  | ccttcggaaa  | aagagttggg | agctcttgat  | ccggcaaaaca | 7560 |
| aaccaccgct  | ggtagcgggt  | tttttggttg  | caagcagcag | attacgcgca  | gaaaaaaagg  | 7620 |
| atctcaagaa  | gaccttttga  | tcttttctac  | ggggtctgac | gctcagtgga  | acgaaaactc  | 7680 |
| acgttaaggg  | attttggtca  | tgagattatc  | aaaaaggatc | ttcacctaga  | tcctttttaa  | 7740 |
| ttaaaaatga  | agttttaaat  | caatctaaag  | tatatatgag | taaacttggt  | ctgacagtta  | 7800 |
| ccaatgctta  | atcagtgagg  | cacctatctc  | agcgatctgt | ctatttctgt  | catccatagt  | 7860 |
| tgctgactc   | cccgctcgtg  | agataactac  | gatacgggag | ggcttaccat  | ctggccccag  | 7920 |
| tgctgcaatg  | ataccgcgag  | accacgcctc  | accggtccca | gatttatcag  | caataaaacca | 7980 |
| gccagccgga  | agggccgagc  | gcagaagtgg  | tcctgcaact | ttatccgcct  | ccatccagtc  | 8040 |
| tattaattgt  | tgccgggaag  | ctagagtaag  | tagttcgcca | gttaatagtt  | tgcgcaacgt  | 8100 |
| tgttgccatt  | gctacaggca  | tcgtgggtgc  | acgctcgctg | tttggtatgg  | cttcattcag  | 8160 |
| ctccggttcc  | caacgatcaa  | ggcgagttac  | atgatcccc  | atgttggtgca | aaaaagcggt  | 8220 |
| tagtccttc   | ggtcctccga  | tcgttgctcag | aagtaagttg | gocgcagtgt  | tatcactcat  | 8280 |
| ggttatggca  | gactgcata   | attctcttac  | tgtcatgcca | tcgtaagat   | gcttttctgt  | 8340 |
| gactggtgag  | tactcaacca  | agtcattctg  | agaatagtgt | atgcggcgac  | cgagttgctc  | 8400 |
| ttgcccggcg  | tcaatacggg  | ataataccgc  | gccacatagc | agaactttaa  | aagtgtcat   | 8460 |
| cattggaaaa  | cgttcttcgg  | ggcgaaaact  | ctcaaggatc | ttaccgctgt  | tgagatccag  | 8520 |
| ttcgatgtaa  | ccactcgtg   | cacccaactg  | atcttcagca | tcctttactt  | tcaccagcgt  | 8580 |
| ttctgggtga  | gcaaaaacag  | gaaggcaaaa  | tgccgcaaaa | aagggaataa  | ggcgacacg   | 8640 |
| gaaatgttga  | atactcatac  | tcttcctttt  | tcaatattat | tgaagcattt  | atcagggtta  | 8700 |
| ttgtctcatg  | agcgataaca  | tatttgaatg  | tatttagaaa | aataaataaa  | taggggttcc  | 8760 |
| gcgcacattt  | ccccgaaaag  | tgccacctga  | cg         |             |             | 8792 |

Trình tự của HA chưa trưởng thành của virus A/Hong Kong/1/1968 (SEQ ID NO:193)

MKTIIALSIFCLALGQDLPGNDNSTATLCLGHHAVPNGTLVKTITDDQIEVTNATELVQSSSTGKIC  
NNPHRILDGIDCTLIDALLGDPHCDVFQNETWDLFVERSKAFSNCYPYDVPDYASLRSLVASSGTL  
EFITEGFTWTGVTQNGGSNACKRGPG  
SGFFSRLNWLTKSGSTYPVLNVTMPNNDNFDKLYIWGVHHPSTNQEQTSLYVQASGRVTVSTRRS  
QQTIIPNIGSRPWVRGLSSRISIWTVKPGDVLVINSNGNLIAPRGYFKMRTGKSSIMRSDAPIDTCI  
SECITPNGSIPNDKPFQNVNKITYGACPKYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTRGLFGAIAGFIENGWE  
GMIDGWYGFRHQNSEGTGQAADLKSTQAAIDQINGKLN RVIEKTNEKFHQIEKEFSEVEGRIQDLE  
KYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQHTIDLTDSEMKNLFEKTRRQLRENAEDMGNGCFKIYHKCD  
NACIESIRNGTYDHDVYRDEALNNRFQIKGVELKSGYKDWILWISFAISCFLLCVVLLGFIMWACQ  
RGNIRCNICI

## Tài liệu tham khảo

- Air MA (1981), Sequence relationships among the hemagglutinin genes of 12 subtypes of influenza A virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 78(12):7639-7643.
- Boel E et al. (2000), Functional human monoclonal antibodies of all isotypes constructed from phage display library-derived single-chain Fv antibody fragments. *J Immunol Methods* 239:153-166.
- Brown EG et al. (2001), Pattern of mutation in the genome of influenza A virus on adaptation to increased virulence in the mouse lung: Identification of functional themes. *PNAS* 98:6883-6888.
- Burton DR and Barbas CF (1994), Human antibodies from combinatorial libraries. *Adv Immunol.* 57:191-280.
- Chou TC and P Talalay (1984), Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv Enzyme Regul* 22:27-55.
- De Kruif J et al. (1995a), Rapid selection of cell subpopulation-specific human monoclonal antibodies from a synthetic phage antibody library. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:3938.
- De Kruif J et al. (1995b), Selection and application of human single-chain Fv antibody fragments from a semi-synthetic phage antibody display library with designed CDR3 regions. *J Mol Biol* 248:97-105.
- Ekiert et al. (2009), Antibody recognition of a highly conserved influenza virus epitope. *Science* 324:246-251.
- Fouchier AM et al. (2005), Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 79(5):2814-2822.
- Gocník M. et al. (2007), Antibodies specific to the HA2 glycopolyptide of influenza A virus haemagglutinin with fusion-inhibition activity contribute to the protection of mice against lethal infection, *J Gen Virol* 88: 951-955.

Huls G et al. (1999), Antitumor immune effector mechanisms recruited by phage display-derived fully human IgG1 and IgA1 monoclonal antibodies. *Cancer Res* 59:5778-5784.

Östberg L and Pursch E (1983), Human x (Mouse x Human) hybridomas stably producing human antibodies. *Hybridoma* 2(4): 361-367.

Slootstra JW et al. (1996), Structural aspects of antibody-antigen interaction revealed through small random peptide libraries. *Mol Divers* 1:87-96.

Stropkovská A et al. (2009), Broadly cross-reactive monoclonal antibodies against HA2 glycopeptide of influenza A virus hemagglutinin of H3 subtype reduce replication of influenza A viruses of human and avian origin. *Acta Virologica* 53: 15-20.

The World Health Organization Global Influenza Program Surveillance Network (2005), Evolution of H5N1 Avian Influenza Viruses in Asia. *Emerg Infect Dis* 11:1515-1521.

Varečková E. et al. (2003a), Inhibition of fusion activity of influenza A haemagglutinin mediated by HA2-specific monoclonal antibodies. *Arch Virol* 148: 469-486.

Varečková E. et al. (2003b), A monoclonal antibody specific to the HA2 glycoprotein of influenza A virus haemagglutinin that inhibits its fusion activity reduces replication of the virus. *Acta Virologica* 47: 229-236.

Wang T. et al. (2010), Broadly protective monoclonal antibodies against H3 influenza viruses following sequential immunization with different hemagglutinins. *PLoS Pathogens* 6(2): 1-9.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phân tử liên kết được phân lập của người có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm chứa protein hemagglutinin (HA) cúm thuộc typ phụ H3, trong đó phân tử liên kết này có thể nhận biết và liên kết đặc hiệu với epitop trên protein HA không phân cắt (HA0) của virus cúm chứa polypeptit HA2 thuộc typ phụ H3, trong đó epitop này có các axit amin ở các vị trí 19, 25, 27, 33 và 34 của polypeptit HA2, và trong đó axit amin ở vị trí 19 là axit aspartic, axit amin ở vị trí 25 là arginin, axit amin ở vị trí 27 là glutamin, axit amin ở vị trí 33 là glyxin và axit amin ở vị trí 34 là glutamin.
2. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử này có hoạt tính trung hòa chống lại một hoặc nhiều chủng virus cúm H3N2 được chọn từ nhóm bao gồm A/Wisconsin/67/2005, A/Hiroshima/52/2005, A/Panama/2007/99, và A/Johannesburg/33/94.
3. Phân tử liên kết theo điểm 2, trong đó phân tử liên kết này còn có hoạt tính trung hòa chống lại chủng virus cúm H3N2 A/Hong Kong/1/68.
4. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử liên kết này có thể ngăn ngừa sự phân cắt phân tử tiền chất HA0 thành HA1 và HA2 bằng trypsin *in vitro*.
5. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử liên kết này có thể ngăn ngừa sự thay đổi cấu dạng của protein HA của virus thuộc typ phụ H3 cần thiết để dung hợp màng virus cúm với màng nội thể của tế bào.

6. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử liên kết này không thể liên kết và trung hòa virus cúm A chứa HA thuộc typ phụ H1.

7. Kháng thể đơn dòng được phân lập của người có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm chứa protein hemagglutinin (HA) thuộc typ phụ H3, trong đó kháng thể đơn dòng này có thể nhận biết và liên kết đặc hiệu với epitop trên protein HA không phân cắt (HA0) của virus cúm chứa polypeptit HA2 thuộc typ phụ H3, trong đó epitop này có các axit amin ở các vị trí 19, 25, 27, 33 và 34 của polypeptit HA2, và trong đó axit amin ở vị trí 19 là axit aspartic, axit amin ở vị trí 25 là arginin, axit amin ở vị trí 27 là glutamin, axit amin ở vị trí 33 là glyxin và axit amin ở vị trí 34 là glutamin.

8. Dược phẩm chứa phân tử liên kết của người có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm chứa protein hemagglutinin (HA) thuộc typ phụ H3, trong đó phân tử liên kết này có thể nhận biết và liên kết đặc hiệu với epitop trong protein HA không phân cắt (HA0) của virus cúm chứa polypeptit HA2 thuộc typ phụ H3, trong đó epitop này có các axit amin ở các vị trí 19, 25, 27, 33 và 34 của polypeptit HA2, và trong đó axit amin ở vị trí 19 là axit aspartic, axit amin ở vị trí 25 là arginin, axit amin ở vị trí 27 là glutamin, axit amin ở vị trí 33 là glyxin và axit amin ở vị trí 34 là glutamin.

9. Phương pháp chẩn đoán sự nhiễm virus cúm ở đối tượng, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: cho mẫu lấy từ bệnh nhân tiếp xúc với lượng hữu hiệu chẩn đoán của phân tử liên kết của người có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H3, trong đó phân tử liên kết này có thể nhận biết và liên kết đặc hiệu với epitop trong protein HA không phân cắt (HA0) của virus cúm chứa polypeptit HA2 thuộc typ phụ H3, trong đó epitop này có các

axit amin ở vị trí 19, 25, 27, 33, và 34 của polypeptit HA2, và trong đó axit amin ở vị trí 19 là axit aspartic, axit amin ở vị trí 25 là arginin, axit amin ở vị trí 27 là glutamin, axit amin ở vị trí 33 là glyxin, và axit amin ở vị trí 34 là glutamin; và xác định xem phân tử liên kết này có liên kết đặc hiệu với phân tử trong mẫu không, trong đó sự liên kết này cho thấy sự nhiễm virus cúm.

10. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử liên kết này có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H3N2.

11. Thể liên hợp miễn dịch chứa phân tử liên kết theo điểm 1, và ít nhất một đuôi.

12. Dược phẩm chứa phân tử liên kết của người có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm chứa protein hemagglutinin (HA) thuộc typ phụ H3N2, trong đó phân tử liên kết này có thể nhận biết và liên kết đặc hiệu với epitop trong protein HA không phân cắt (HA0) của virus thuộc typ phụ H3 chứa polypeptit HA2, trong đó epitop này có các axit amin ở vị trí 19, 25, 27, 33, và 34 của polypeptit HA2, và trong đó axit amin ở vị trí 19 là axit aspartic, axit amin ở vị trí 25 là arginin, axit amin ở vị trí 27 là glutamin, axit amin ở vị trí 33 là glyxin, và axit amin ở vị trí 34 là glutamin; và tá dược được dụng.

13. Dược phẩm theo điểm 12, trong đó dược phẩm này còn chứa ít nhất một phân tử liên kết khác.

14. Dược phẩm theo điểm 13, trong đó (các) phân tử liên kết khác có thể trung hòa virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H1 và/hoặc H5.

15. Dược phẩm chứa ít nhất hai phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa virus cúm, trong đó ít nhất một trong số các phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa virus cúm này có thể trung hòa một hoặc nhiều typ phụ virus cúm thuộc nhóm

phả hệ 1, và ít nhất một trong số các phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa virus cúm này có thể trung hòa một hoặc nhiều typ phụ virus cúm thuộc nhóm phả hệ 2; và tá dược được dụng, trong đó dược phẩm này chứa phân tử liên kết của người có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm chứa protein hemagglutinin (HA) thuộc typ phụ H3, trong đó phân tử liên kết này có thể nhận biết và liên kết đặc hiệu với epitop trong protein HA không phân cắt (HA0) của virus cúm chứa polypeptit HA2 thuộc typ phụ H3, trong đó epitop này có các axit amin ở vị trí 19, 25, 27, 33, và 34 của polypeptit HA2, và trong đó axit amin ở vị trí 19 là axit aspartic, axit amin ở vị trí 25 là arginin, axit amin ở vị trí 27 là glutamin, axit amin ở vị trí 33 là glyxin, và axit amin ở vị trí 34 là glutamin.

16. Dược phẩm chứa ít nhất một phân tử liên kết có hoạt tính trung hòa virus cúm có thể trung hòa virus cúm chứa protein hemagglutinin (HA) thuộc typ phụ H1 và/hoặc H5; và phân tử liên kết của người có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H3, trong đó phân tử liên kết này có thể nhận biết và liên kết đặc hiệu với epitop trong protein HA không phân cắt (HA0) của virus cúm chứa polypeptit HA2 thuộc typ phụ H3, trong đó epitop này có các axit amin ở vị trí 19, 25, 27, 33, và 34 của polypeptit HA2, và trong đó axit amin ở vị trí 19 là axit aspartic, axit amin ở vị trí 25 là arginin, axit amin ở vị trí 27 là glutamin, axit amin ở vị trí 33 là glyxin, và axit amin ở vị trí 34 là glutamin.

17. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử liên kết này có thể nhận biết và liên kết đặc hiệu protein HA của virus cúm thuộc typ phụ H3N2.

18. Dược phẩm theo điểm 14, trong đó (các) phân tử liên kết khác liên kết với virus H1N1 và/hoặc H5N1.

19. Kháng thể đơn dòng của người theo điểm 7, trong đó kháng thể này có hoạt tính trung hòa chống lại virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H3N2.

20. Kháng thể đơn dòng của người theo điểm 7, trong đó kháng thể này bao gồm vùng CDR1 của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 109, vùng CDR2 của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 110, và vùng CDR3 của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 111; và vùng CDR1 của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 112, vùng CDR2 của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 113, và vùng CDR3 của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 114.

21. Kháng thể đơn dòng của người theo điểm 7, trong đó kháng thể này chứa vùng CDR1 của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 138, vùng CDR2 của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 139, và vùng CDR3 của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 140; và vùng CDR1 của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 141, vùng CDR2 của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 142, và vùng CDR3 của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 143.

22. Kháng thể đơn dòng của người theo điểm 7, trong đó kháng thể này chứa vùng CDR1 của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 144, vùng CDR2 của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 145, và vùng CDR3 của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 146; và vùng CDR1 của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 147, vùng CDR2 của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 148, và vùng CDR3 của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 149.

23. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử này có hoạt tính trung hòa chéo chống lại ít nhất là virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H7.

24. Kháng thể đơn dòng của người theo điểm 7, trong đó kháng thể này có hoạt tính trung hòa chéo chống lại ít nhất là virus cúm chứa HA thuộc typ phụ H7.

25. Dược phẩm chứa phân tử liên kết của người có hoạt tính trung hòa chéo chống lại

virut cúm chứa protein hemagglutinin (HA) thuộc typ phụ H3 và có hoạt tính trung hòa chéo chống lại virut cúm chứa HA thuộc typ phụ H7, trong đó phân tử liên kết này có thể nhận biết và liên kết đặc hiệu với epitop trong protein HA không phân cắt (HA0) của virut cúm chứa polypeptit HA2 thuộc typ phụ H3, trong đó epitop này có các axit amin ở vị trí 19, 25, 27, 33, và 34 của polypeptit HA2, và trong đó axit amin ở vị trí 19 là axit aspartic, axit amin ở vị trí 25 là arginin, axit amin ở vị trí 27 là glutamin, axit amin ở vị trí 33 là glyxin, và axit amin ở vị trí 34 là glutamin; và tá dược được dụng.

26. Phân tử liên kết theo điểm 1, trong đó phân tử này có hoạt tính trung hòa chéo chống lại ít nhất là virut cúm chứa HA thuộc typ phụ H10.

27. Kháng thể đơn dòng của người theo điểm 7, trong đó kháng thể này có hoạt tính trung hòa chéo chống lại ít nhất là virut cúm chứa HA thuộc typ phụ H10.

28. Dược phẩm chứa phân tử liên kết của người có hoạt tính trung hòa chéo chống lại virut cúm chứa protein hemagglutinin (HA) thuộc typ phụ H3 và có hoạt tính trung hòa chéo chống lại virut cúm chứa HA thuộc typ phụ H10, trong đó phân tử liên kết này có thể nhận biết và liên kết đặc hiệu với epitop trong protein HA không phân cắt (HA0) của virut cúm chứa polypeptit HA2 thuộc typ phụ H3, trong đó epitop này có các axit amin ở vị trí 19, 25, 27, 33, và 34 của polypeptit HA2, và trong đó axit amin ở vị trí 19 là axit aspartic, axit amin ở vị trí 25 là arginin, axit amin ở vị trí 27 là glutamin, axit amin ở vị trí 33 là glyxin, và axit amin ở vị trí 34 là glutamin; và tá dược được dụng.

1/17

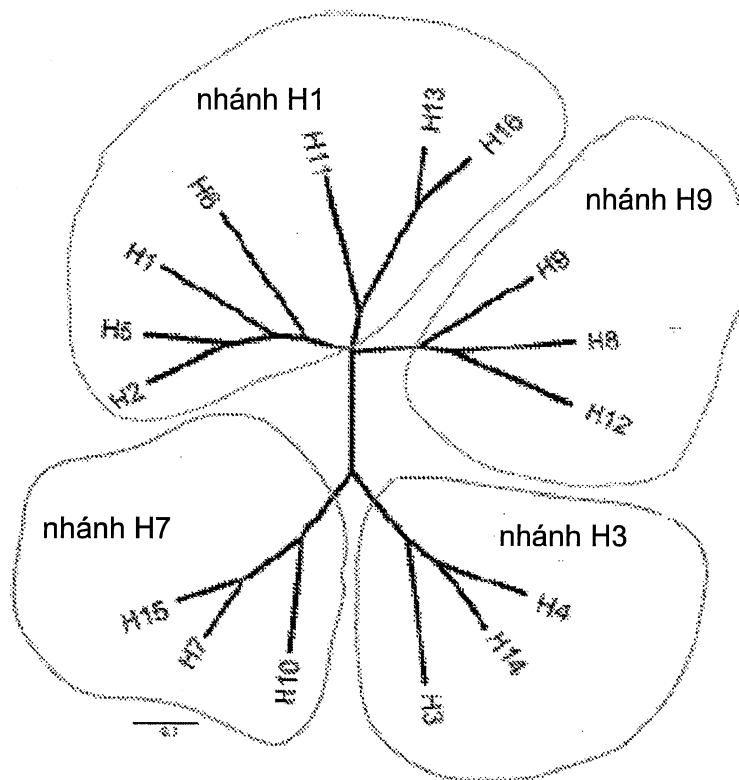
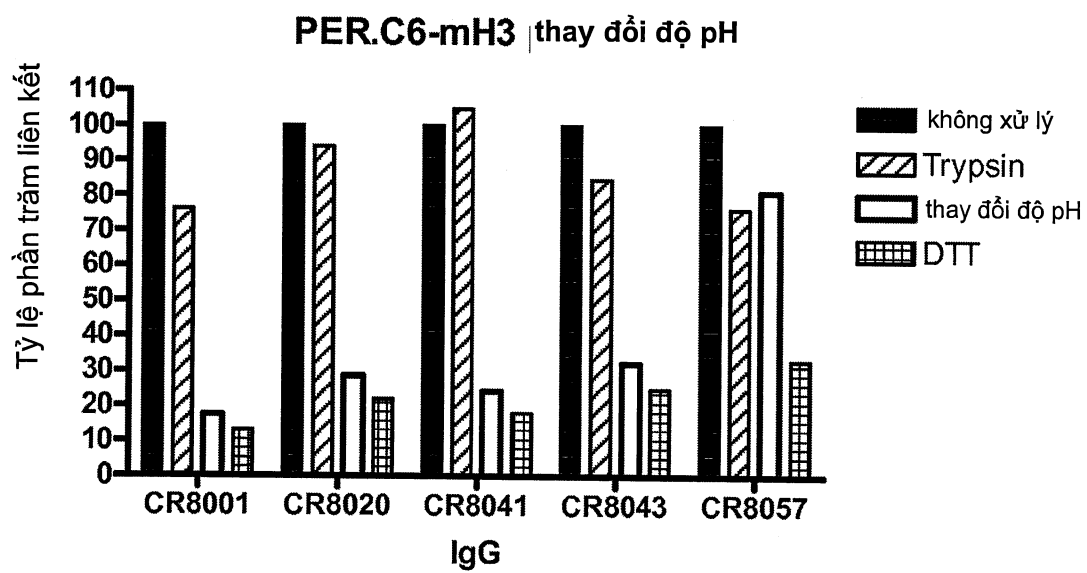


Fig.1

2/17



Fig,2

3/17

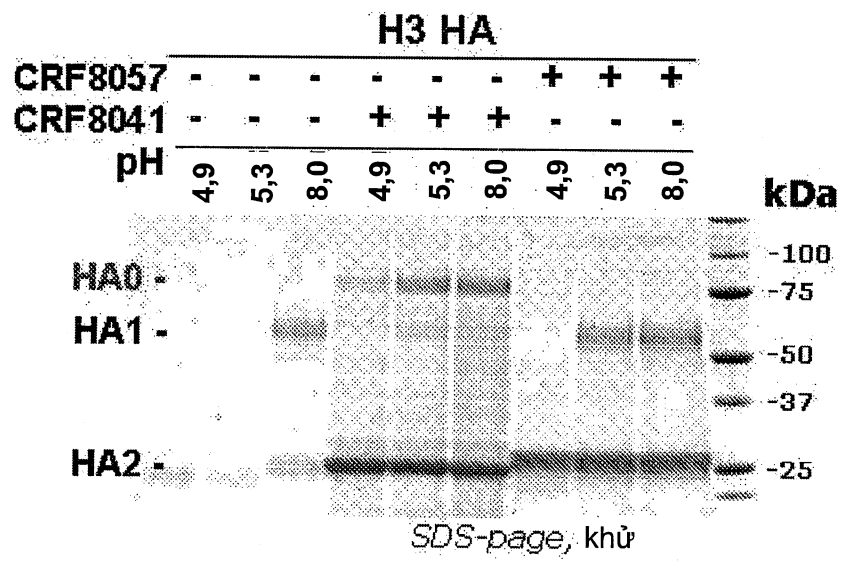


Fig.3

4/17

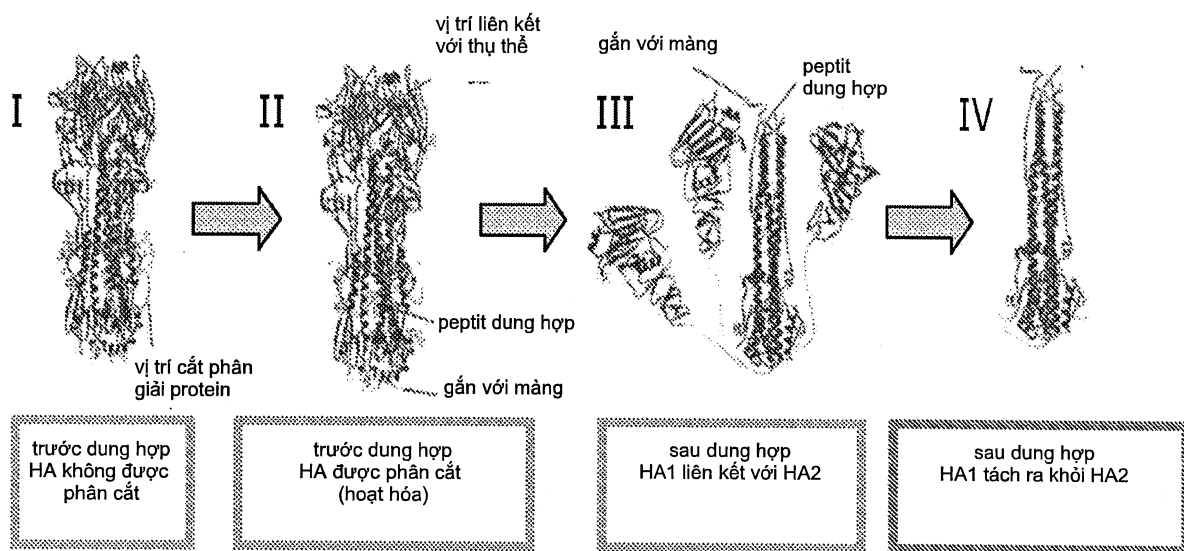


Fig.4

5/17

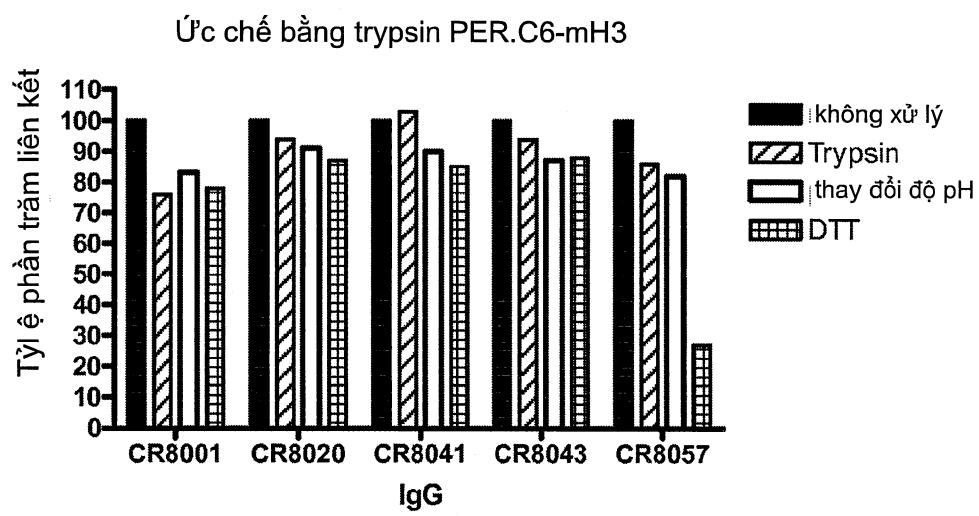


Fig.5

6/17

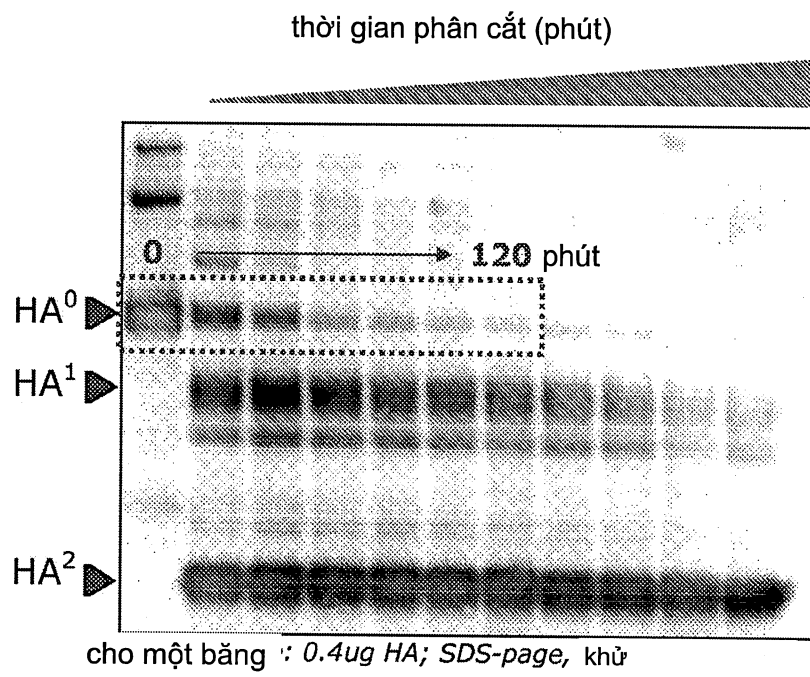
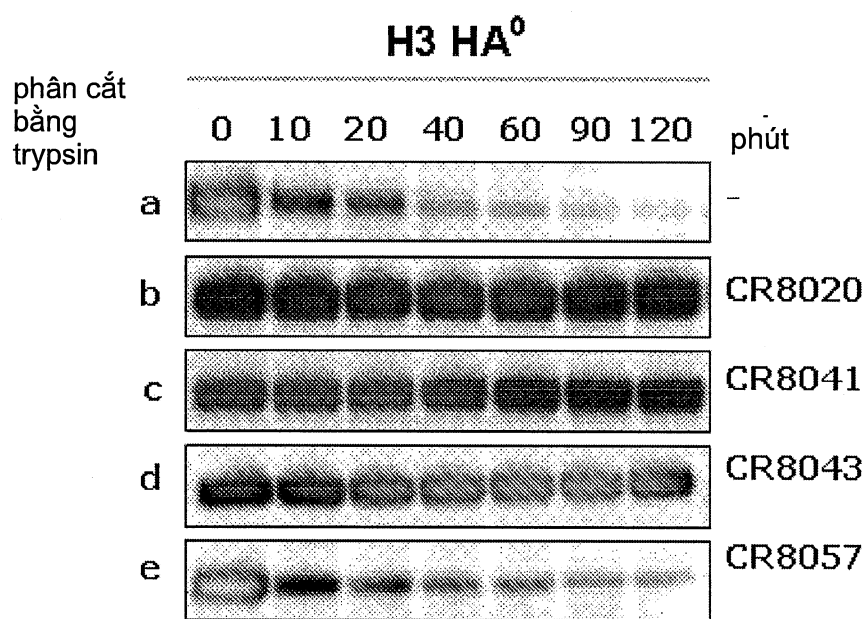


Fig.6

7/17



cho 1 băng : 0.4ug HA, 2.5ug IgG; SDS-page, khử

Fig.7

8/17

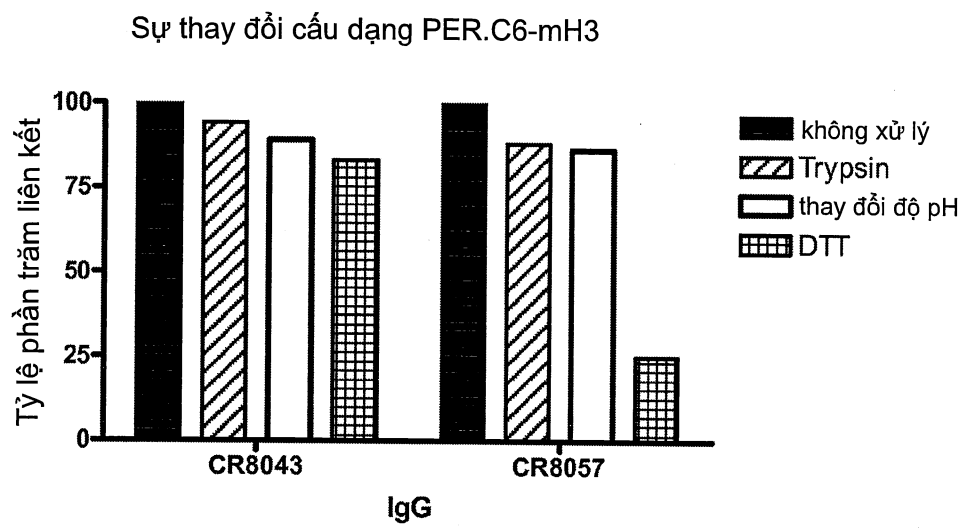


Fig.8

9/17

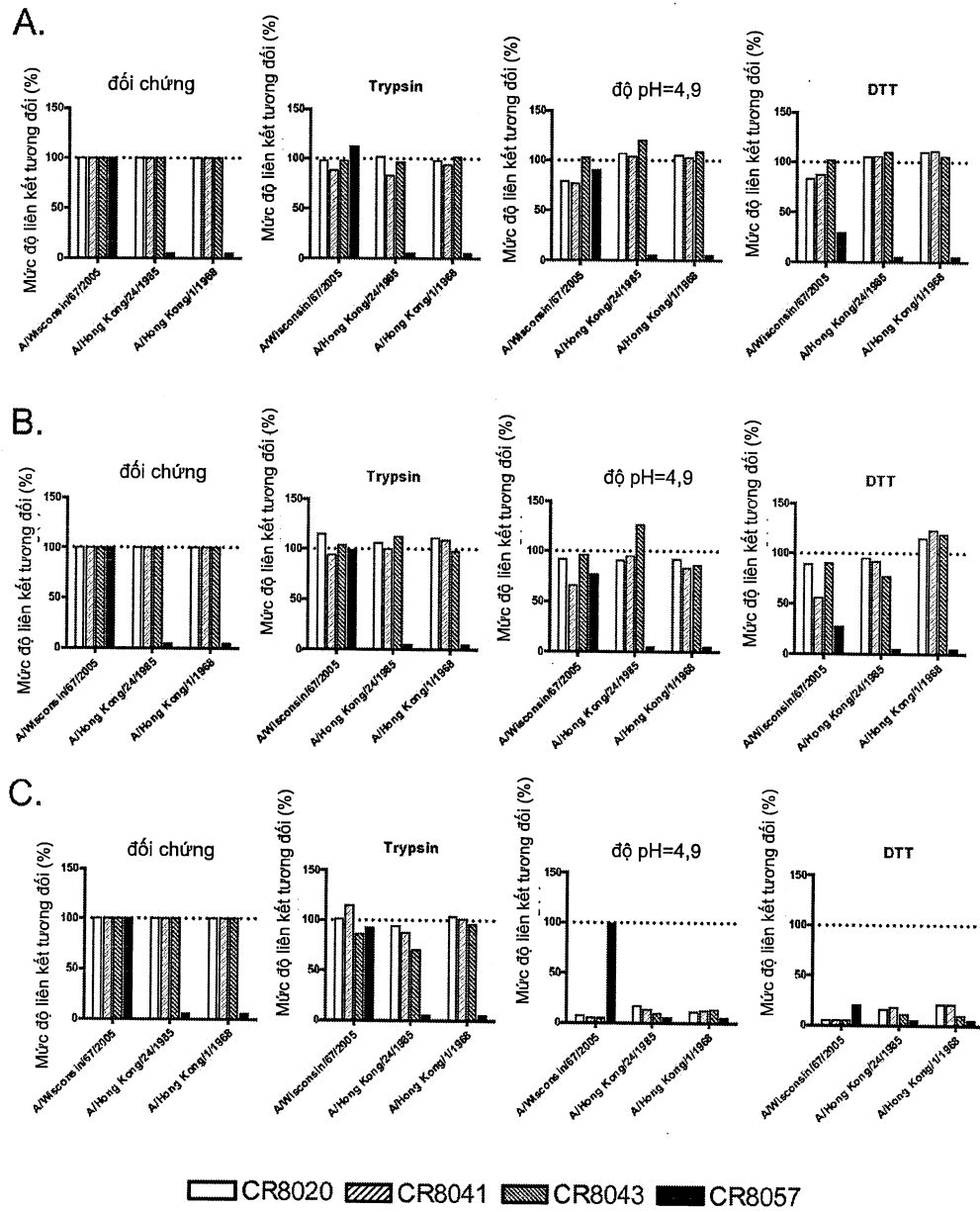
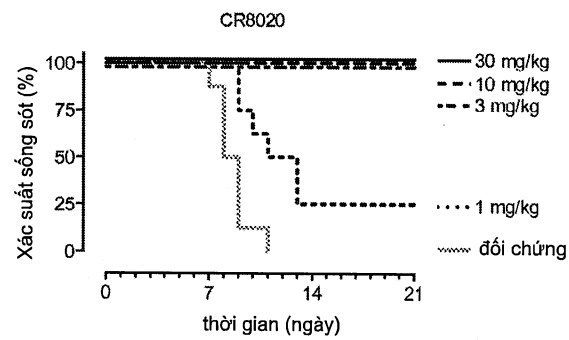


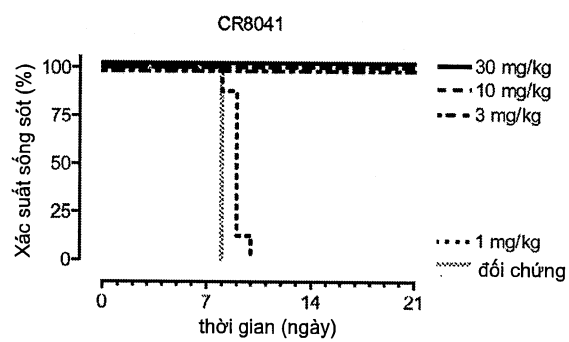
Fig.9

10/17

A.



B.



C.

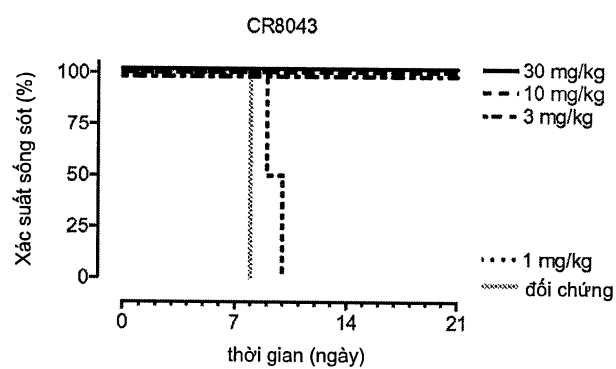
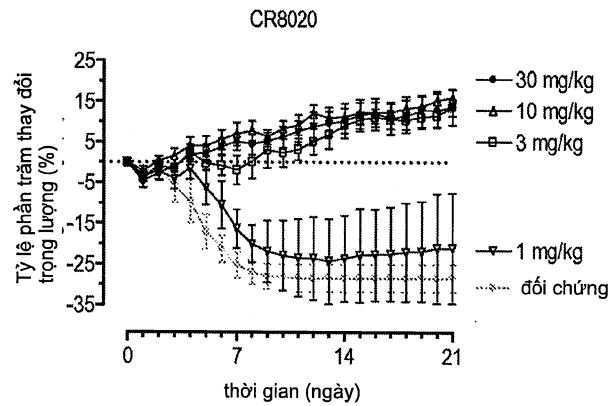


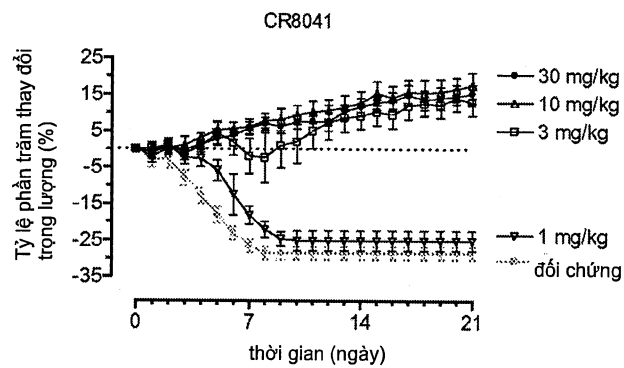
Fig.10

11/17

A.



B.



C.

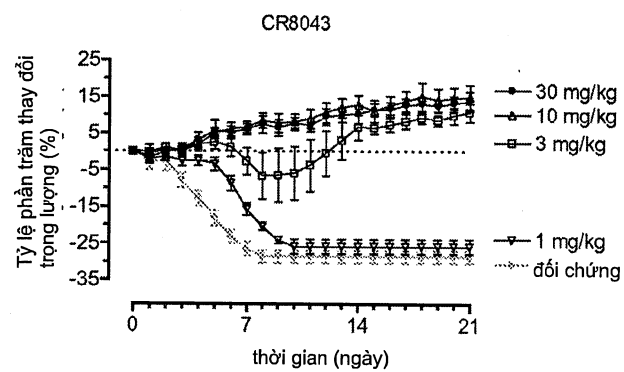
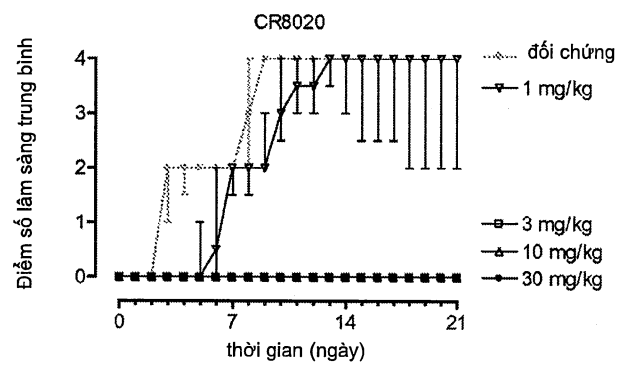


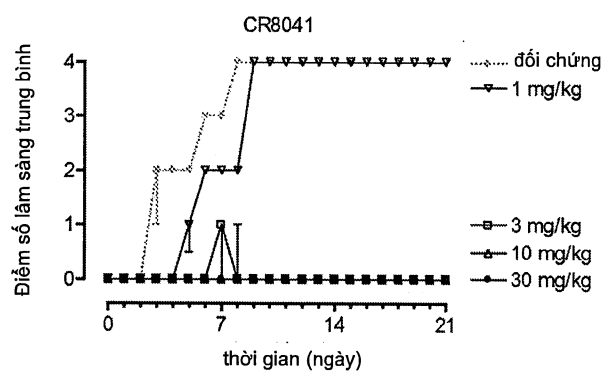
Fig.11

12/17

A.



B.



C.

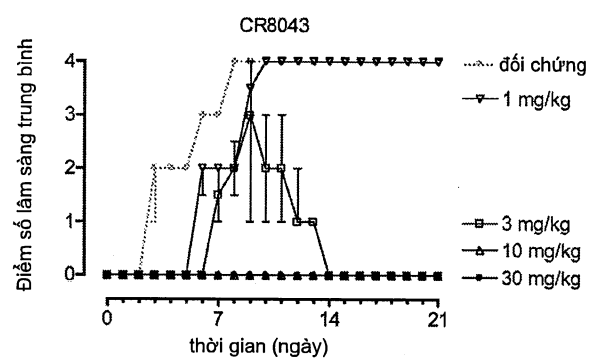
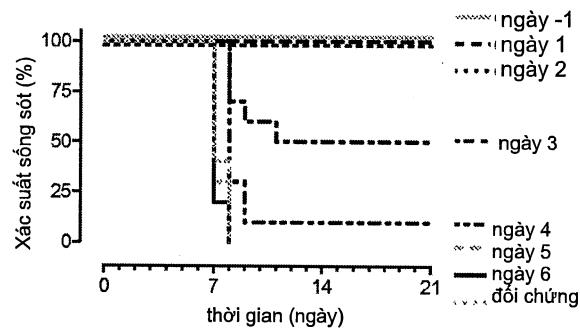


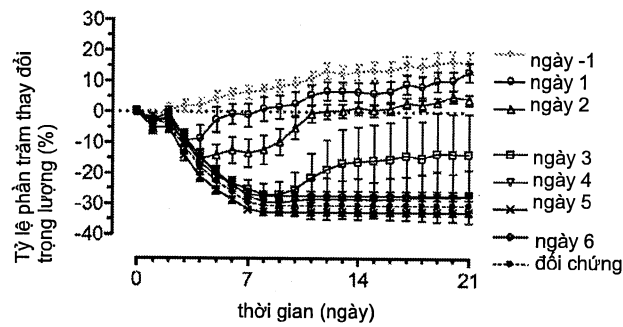
Fig.12

13/17

A.



B.



C.

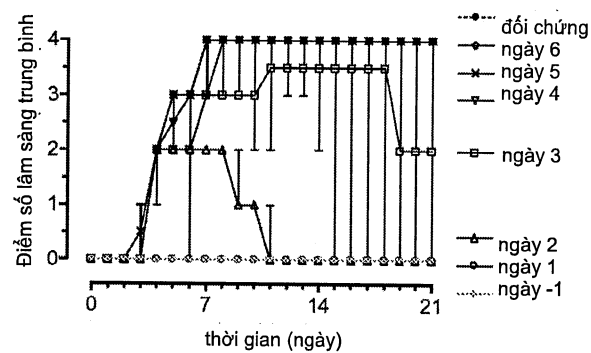
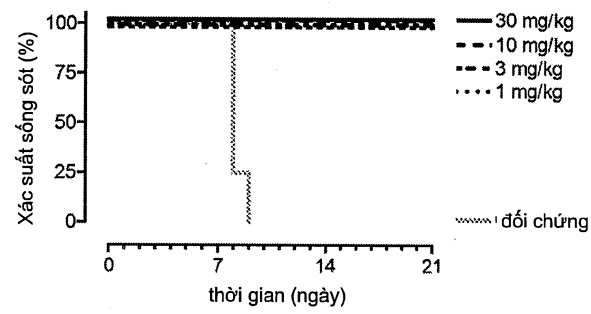


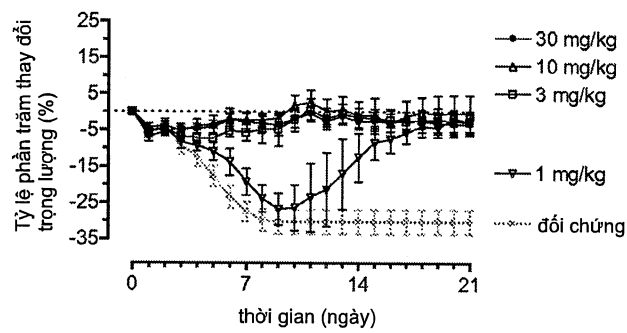
Fig.13

14/17

A.



B.



C.

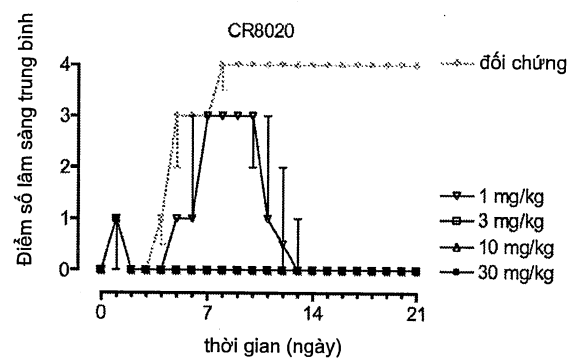
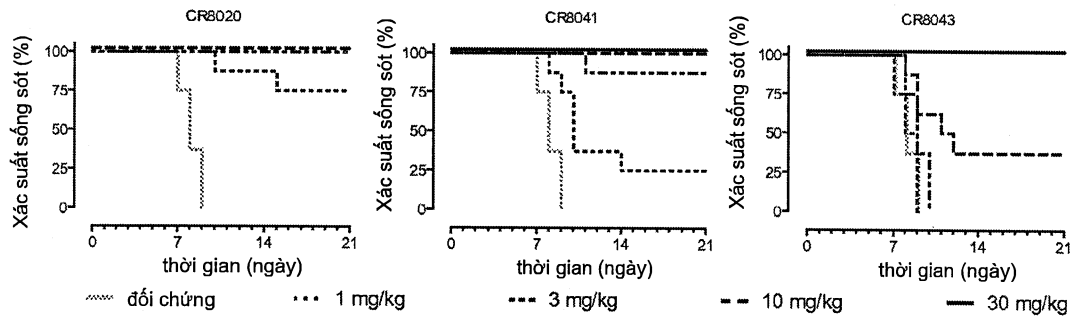


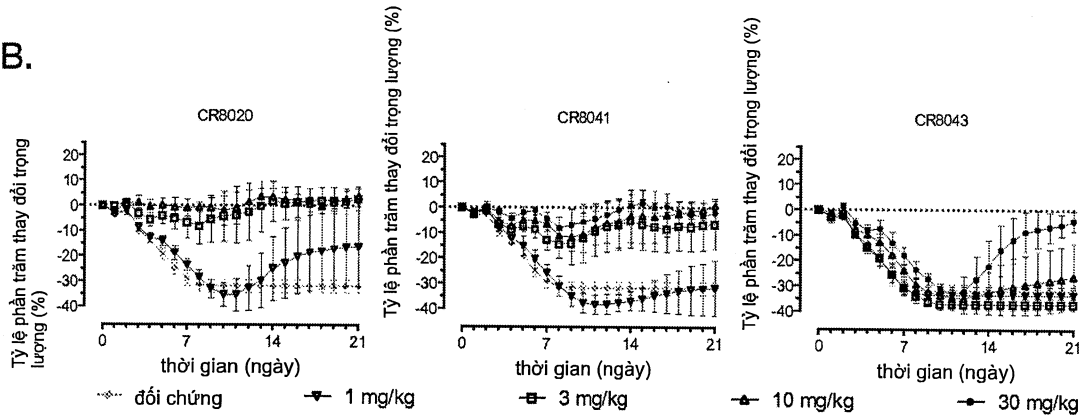
Fig.14

15/17

A.



B.



C.

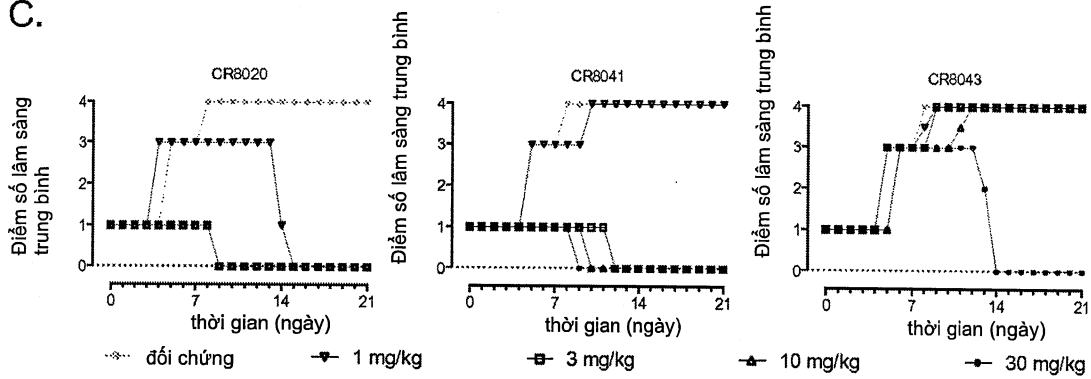
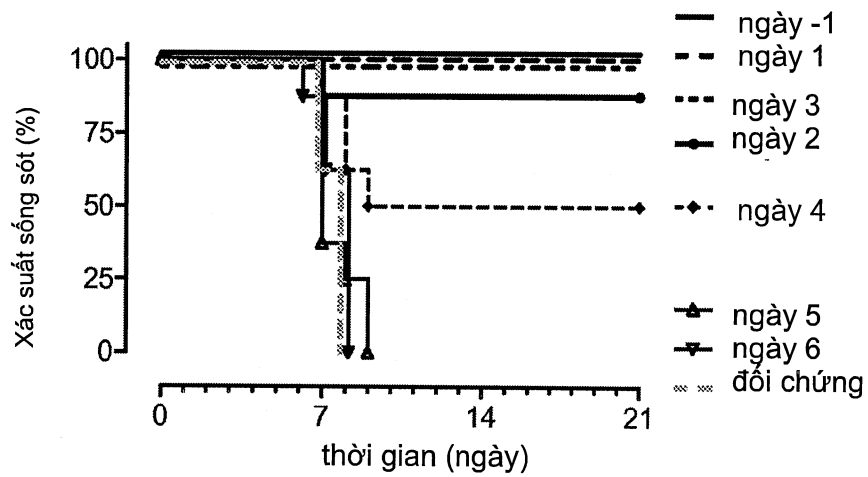


Fig.15

16/17

A.



B.

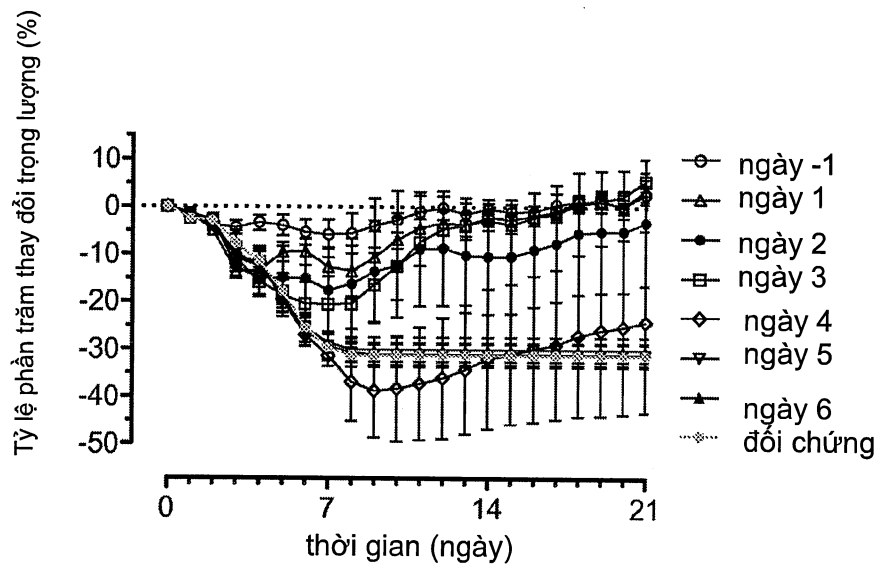


Fig.16

17/17

C.

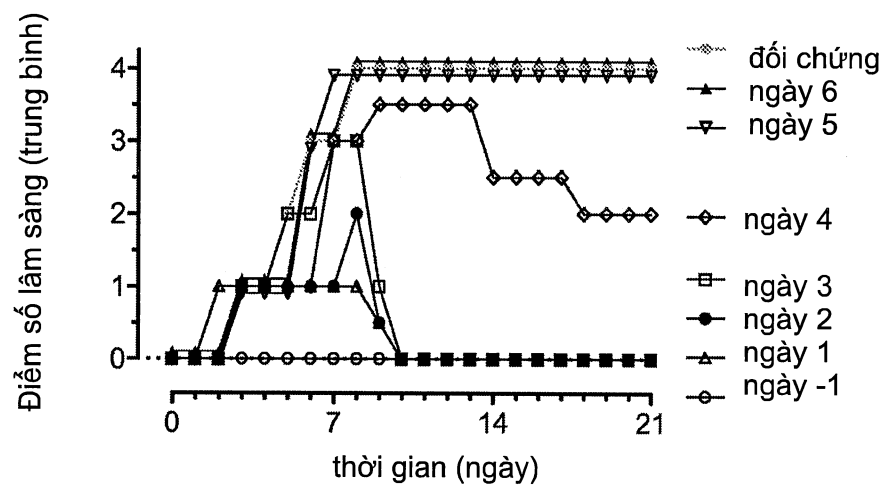


Fig.16 (tiếp theo)

## DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Cruce11 Holland BV  
 <120> Phân tử liên kết của người có khả năng trung hòa virus cúm H3N2 và được phẩm chứa phân tử liên kết này  
 <130> 0170 WO 00 ORD  
 <140> PCT/EP2010/056217  
 <141> 2010-05-06  
 <160> 258  
 <170> PatentIn phiên bản 3.3  
 <210> 1  
 <211> 339  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-001 VH ADN  
 <400> 1  
 gaggtgcagc tggaggagtc tggaggagtc ctgatccagc cggggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccgtcagt agcaactacg tgagctgggt ccgccaggcc 120  
 ccagggaagg ggctggagtg gctctcactt atttacacgg gtggtaccac atactacgca 180  
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaact ccaagaatac ggtgtttctt 240  
 caaatgaaca gcctgagagc cgaggacgcg gccatgtatt actgtgagag agtgtcagca 300  
 ttacggtttt tgcatgggcc aaactacgcg atggacgtc 339

<210> 2  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-001 VH PROTEIN

<400> 2  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn  
 20 25 30  
 Tyr Val Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
 35 40 45  
 Ser Leu Ile Tyr Thr Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

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

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

Arg Val Ser Ala Leu Arg Phe Leu Gln Trp Pro Asn Tyr Ala Met Asp  
100 105 110

Val

<210> 3

<211> 303

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-001 VL ADN

<400> 3

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacgggc gatcaccatc 60  
tcctgctctg gaacccgcag tgacgttggt ggtcataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120  
caccaggca aagcccccaa actcatgatt tatgagggtca gtcacgggcc ctgaggggtt 180  
tctaatacgt tctctggctc caagtctggc agcacggcct ccctgaccat ctctggcctc 240  
cagtctgagg acgaggctga ttattactgc agctcttata caggtgaagg cccctagga 300  
gtg 303

<210> 4

<211> 101

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-001 VL PROTEIN

<400> 4

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

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

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

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

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

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

Gly Pro Leu Gly Val  
100

<210> 5  
<211> 342  
<212> ADN  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-003 VH ADN

<400> 5  
gaggtgcagc tgggtggagac cgggggagac ttgggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgttcag cctctgaatt cagcttcagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120  
ccagggaaag ggctggagtg ggtggccaac atgaagcaag atggaagtga gaagtactat 180  
gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattatat 240  
ctgcaaataga acagcctgag aggcgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggttcc 300  
tgtgacgatt cttggactgg ttgtcatgat gcttttgaca tc 342

<210> 6  
<211> 114  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-003 VH PROTEIN

<400> 6

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

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

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

Ala Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

# 21115

65

70

75

80

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

Ala Arg Gly Ser Cys Asp Asp Ser Trp Thr Gly Cys His Asp Ala Phe  
100 105 110

Asp Ile

<210> 7  
<211> 291  
<212> ADN  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-003 VL ADN

<400> 7  
gtgttgacgc agccgccctc ggtgtcagtg gccccaggac agacggccag gattgcctgt 60  
gggggaaaca acattgggag taaaagtgtg cactggtacc agcagaagcc aggccaggcc 120  
cctgtgctgg tcgtctatga tgatagcgcc cggccctcag ggatccctga gcgattctct 180  
ggctccaatt ctgggaacac ggccaccctg accatcagca gggtcgaggc cggggatgaa 240  
gccgactatt actgtcaggt gtgggagagt ggtagtgatc tacgactgct t 291

<210> 8  
<211> 97  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-003 VL PROTEIN

<400> 8

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

Arg Ile Ala Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His Trp  
20 25 30

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

Ser Ala Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser  
50 55 60

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

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

Leu

<210> 9  
 <211> 342  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-015 VH ADN

<400> 9  
 caggtgcagc tgcaggagtc ggggggagac ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgttcag cctctgaatt cagcttcagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggccaac atgaagcaag atggaagtga gaagtactat 180  
 gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattatat 240  
 ctgcaaatac acagcctgag aggcgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggttcc 300  
 tgtgacgatt cttggactgg ttgtcatgat gcttttgaca tc 342

<210> 10  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-015 VH PROTEIN

<400> 10

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

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

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

Ala Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
 50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Gly Ser Cys Asp Asp Ser Trp Thr Gly Cys His Asp Ala Phe  
 100 105 110

Asp Ile

<210> 11  
 <211> 288  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-015 VL ADN

<400> 11  
 gtgttgacgc agccgccctc ggtgtcagtg gccccaggac agacggccaa gattacctgt 60  
 gggggagaca acattggaag aaaaagtgtg cactgggtacc agcagaagcc aggcttgccc 120  
 cctgtgctgg tcgtcaatga taatagcgac cggccctcag ggatccctgc gcgattctct 180  
 ggctccaact ctgggaacac ggccaccctg accatcagca gggtcgaagc cggggatgag 240  
 gccgactatt actgtcacgt gtggggtagt agtcgtgacc attatgtc 288

<210> 12  
 <211> 96  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-015 VL PROTEIN

<400> 12

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

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

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

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

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

Ala Asp Tyr Tyr Cys His Val Trp Gly Ser Ser Arg Asp His Tyr Val  
 85 90 95

<210> 13  
 <211> 342  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-016 VH ADN

<400> 13  
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac ttgggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgttcag cctctgaatt cagcttcagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggccaac atgaagcaag atggaagtga gaagtactat 180  
 gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattatat 240  
 ctgcaaataga acagcctgag aggcgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggttcc 300  
 tgtgacgatt cttggactgg ttgtcatgat gcttttgaca tc 342

<210> 14  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-016 VH PROTEIN

<400> 14

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

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

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

Ala Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Ser Cys Asp Asp Ser Trp Thr Gly Cys His Asp Ala Phe  
 100 105 110

Asp Ile

<210> 15  
 <211> 303  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-016 VL ADN

<400> 15  
 cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc 60  
 tcctgcactg ggagcagctc caacatcggg gcaggttatg atgtacactg gtaccagcag 120  
 cttccaggaa cagcccccaa actcctcatc tatggtaaca acaatcggcc ctcaggggtc 180  
 cctgaccgat tctctggatc caggtctggc cctttagccc tcctggccat cactgggctc 240  
 caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtgtttat 300  
 gtc 303

<210> 16  
 <211> 101  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-016 VL PROTEIN

<400> 16  
 Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly 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 Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Arg Ser Gly Pro Leu Ala Leu Leu Ala Ile Thr Gly Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser  
 85 90 95  
 Leu Ser Val Tyr Val  
 100

<210> 17  
 <211> 342  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-017 VH ADN

<400> 17  
 gaggtgcagc tgggtggagac tgggggagac ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgttcag cctctgaatt cagcttcagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggccaac atgaagcaag atggaagtga gaagtactat 180  
 gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattatat 240  
 ctgcaaata acagcctgag aggcgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggttcc 300  
 tgtgacgatt cttggactgg ttgtcatgat gcttttgaca tc 342

<210> 18  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-017 VH PROTEIN

<400> 18

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

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

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

Ala Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Ser Cys Asp Asp Ser Trp Thr Gly Cys His Asp Ala Phe  
 100 105 110

Asp Ile

<210> 19  
 <211> 294  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-017 VL ADN

<400> 19  
 tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60  
 acatgccaaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga 120  
 caggcccctg tacttgtcat ctatgctaaa accaaccggc cctcagggat cccagaccga 180  
 ttctctgggt ccacctcagg aaacactgct tccttgacca tcaactggggc tcaggcggag 240  
 gatgagggtg actattactg taactcccgg gacagcagtg gtaaccatgt ggta 294

<210> 20  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-017 VL PROTEIN

<400> 20

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

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

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

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

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

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

Val Val

<210> 21  
 <211> 342  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SC08-018 VH ADN

&lt;400&gt; 21

gaggtgcagc tgggtggagac tggggggagac ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgttcag cctctgaatt cagcttcagt agttattgga tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaaag ggctggagtg ggtggccaac atgaagcaag atggaagtga gaagtactat 180  
 gtggactctg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattatat 240  
 ctgcaaataga acagcctgag aggcgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggttcc 300  
 tgtgacgatt cttggactgg ttgtcatgat gcttttgata tc 342

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 114

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SC08-018 VH PROTEIN

&lt;400&gt; 22

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

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

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

Ala Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Ser Cys Asp Asp Ser Trp Thr Gly Cys His Asp Ala Phe  
 100 105 110

Asp Ile

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 303

&lt;212&gt; ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-018 VL ADN

<400> 23

```

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc      60
tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact atgtctcctg gtaccaacaa      120
caccagggca aagcccccaa actcatgatt tatgaggtca gtcacgggcc ctcagggggt      180
tctaatcgct tctctggctc caagtctggc agcacggcct ccctgaccat ctctggcctc      240
cagtctgagg acgaggctga ttattactgc agctcttata caggtgaagg cccctagga      300
gtg                                          303

```

<210> 24

<211> 101

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-018 VL PROTEIN

<400> 24

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

Gly Pro Leu Gly Val
100

```

<210> 25

<211> 357

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-019 VH ADN

<400> 25  
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtggag cctctggaat cagcgtagc acttctgccca tgagctgggt ccgccaggtt 120  
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attagtggta gtggtgctac cacatactac 180  
 gcaggctccg tgaaggggtcg attcaccatc tccagagaca aatccaagaa cacactgcat 240  
 ctgcaaatga gcagactgag agccgaggac acggccattt actactgtgc gaaagatacc 300  
 tccttgtttg agtatgatac aagtggtttt acggctcccg gcaatgcttt tgatatac 357

<210> 26  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-019 VH PROTEIN

<400> 26

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 Gly Ala Ser Gly Ile Ser Val Ser Thr Ser  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Ala Thr Thr Tyr Tyr Ala Gly Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Lys Asn Thr Leu His  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Ser Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Asp Thr Ser Leu Phe Glu Tyr Asp Thr Ser Gly Phe Thr Ala  
 100 105 110  
 Pro Gly Asn Ala Phe Asp Ile  
 115

<210> 27  
 <211> 294  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SC08-019 VL ADN

&lt;400&gt; 27

```

gacatccagw tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtagatga cagagtcacc      60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc ggctatttaa attggtatca acagaaacca      120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatggg gcatccactt tgcagagtgg ggtcccatca      180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcaccag tctgcaacct      240
gaagactatg caacttacta ctgtcaacag atttacacct cccctccgta cgct          294

```

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 98

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SC08-019 VL PROTEIN

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; đặc điểm khác

&lt;222&gt; (4)..(4)

&lt;223&gt; Xaa có thể là axit amin tự nhiên bất kỳ

&lt;400&gt; 28

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

Tyr Gly Ala Ser Thr 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 Thr Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80

```

```

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

```

Tyr Ala

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 333

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SC08-020 VH ADN

&lt;400&gt; 29

caggtacagc tgcagcagtc aggagctgag gtgaagaccc ctggggcctc agtgaaggtc 60  
 tcctgcaagg cctctggata cacctttacc aggtttggtg tcagctggat acgacaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gattggatgg atcagcgctt acaatgggtga cacatactat 180  
 gcacagaagt tccaggccag agtcaccatg accacagaca catccacgac cacagcctac 240  
 atggagatga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagaaccc 300  
 cccctttttt acagcagctg gtctcttgac aac 333

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SC08-020 VH PROTEIN

&lt;400&gt; 30

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Thr Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Phe  
 20 25 30  
 Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60  
 Gln Ala Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Met Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Glu Pro Pro Leu Phe Tyr Ser Ser Trp Ser Leu Asp Asn  
 100 105 110

&lt;210&gt; 31

&lt;211&gt; 294

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SC08-020 VL ADN

<400> 31  
 gaaattgtgw tgacrcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc atgaactact tagcctgggt ccagcagaaa 120  
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcgtccc gcagggccac tggcatcccc 180  
 gacaggatca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgcagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta cctcacctcg gacg 294

<210> 32  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-020 VL PROTEIN

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa có thể là axit amin tự nhiên bất kỳ

<400> 32

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

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

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

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

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

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

Arg Thr

<210> 33  
 <211> 330  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-021 VH ADN

<400> 33  
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttgatacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc gcctatgcca tgaactgggt ccgccaggct 120  
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtggta gtggcggtag cacatactac 180  
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca actccaagaa gatcctgtat 240  
ctgcaaataa acggcctgag agccgaggac acggccatat attactgtgc gaaaggccgg 300  
gattggactg ggggttactt ctttgactcc 330

<210> 34  
<211> 110  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-021 VH PROTEIN

<400> 34

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr  
20 25 30  
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Ala Ile Gly Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Lys Ile Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Lys Gly Arg Asp Trp Thr Gly Gly Tyr Phe Phe Asp Ser  
100 105 110

<210> 35  
<211> 309  
<212> ADN  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-021 VL ADN

<400> 35

gacatccagw tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60  
 atcaactgca agtccagcca gagtattttc tacagctcca acaataagaa ctacttaact 120  
 tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgtctca tttactgggc atctaccgg 180  
 gaatccggag tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240  
 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ctatagtatt 300  
 ccctacact 309

<210> 36  
 <211> 103  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-021 VL PROTEIN

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa có thể là axit amin tự nhiên bất kỳ

<400> 36

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Tyr Ser  
 20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 65 70 75 80

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

Tyr Tyr Ser Ile Pro Tyr Thr  
 100

<210> 37  
 <211> 330  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-038 VH ADN

<400> 37

```

gaggtgcagc tgggtggactc tggggggaggc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt cgccttttagc ggctatgcca tgagctgggt ccgccaggct      120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagat attggtggta gtggtgggtg cacatactac      180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca atgccaagaa cacgctgtat      240
ctgcaaatga atagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaagcagt      300
agctgggacc gggcctactt ctttgactcc      330

```

<210> 38

<211> 109

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-038 VH PROTEIN

<400> 38

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

Lys Ser Ser Ser Trp Asp Arg Ala Tyr Phe Phe Asp Ser
          100          105

```

<210> 39

<211> 309

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-038 VL ADN

<400> 39

gatattgtga tgacccagac tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60  
 atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca tccataagaa ctacttagcc 120  
 tggtagcagc aaaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctaccggg 180  
 gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240  
 atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagatct 300  
 cctccaact 309

<210> 40  
 <211> 103  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-038 VL PROTEIN

<400> 40

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser  
 20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
 65 70 75 80

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

Tyr Tyr Arg Ser Pro Pro Thr  
 100

<210> 41  
 <211> 336  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-039 VH ADN

<400> 41

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acgtgcactg tctctggcgg ctccatcggt agttactact ggagctggat acggcagccc 120

ccaggggaagg gactgggagtg gattggatat atctattacc gtgggggtac cagttacaac 180  
 ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtcgacacgt ccaagagcca gttcaccttg 240  
 aagctgaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag aaaggactgg 300  
 ggatcagcgg ccggaagtgt ctggtacttc gatctc 336

<210> 42  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-039 VH PROTEIN

<400> 42

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 Gly Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 43  
 <211> 300  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-039 VL ADN

<400> 43

cagtctgccc tgactcagcc tccctccgcg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 60  
 tcctgcactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataatt atgtctcctg gtaccaacaa 120  
 caccaggca aagccccaa actcatgatt cgtgagggtca gtaagcggcc ctcaggggtc 180

cctgatcgct tctctgggtc caagtctggc aacacggcct ccctgaccgt ctctgggctc 240  
 caggctgagg atgaggctga atactactgc agctcgtatg caggcagcaa caatctgata 300

<210> 44  
 <211> 100  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-039 VL PROTEIN

<400> 44

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

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

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

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

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

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

Asn Asn Leu Ile  
 100

<210> 45  
 <211> 333  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-040 VH ADN

<400> 45

gagggtgcagc tgggtggagtc aggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cgtctggatt cgctttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg gactggagtg ggtgacctt atatggtatg atggaagtaa taaacactat 180  
 gcagactcca tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaatga gcagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagatggg 300  
 ggatatagca cctgggaatg gtacttcgat ctc 333

<210> 46  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-040 VH PROTEIN

<400> 46

Glu 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 Ala Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

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

Thr Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Met  
 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 Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

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

<210> 47  
 <211> 291  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-040 VL ADN

<400> 47

gaaattgtgc tgactcagtc tccggacttt cagtctgtga ctccaaagga gagagtcacc 60  
 atcacctgcc gggccagtc gggcattggc agtaacttac actggtacca gcagaaacca 120  
 gatcagtcctc caaagctcct catcaagtat gcttcccagt ccatcacagg ggtcccctcg 180  
 aggttcagtg gcaggggatc tgggacagat ttcaccctca ccatcaatag cctggaagtt 240  
 gaagatgctg cagtgtatta ctgtcatcag agtagtagtt taccgctcac t 291

<210> 48  
 <211> 97  
 <212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-040 VL PROTEIN

<400> 48

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys  
1 5 10 15

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

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
35 40 45

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

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

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

Thr

<210> 49

<211> 333

<212> ADN

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-041 VH ADN

<400> 49

caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgccagg cttcgggtta cacctttacc tcctttggtc tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcctgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtga aataaagtat 180

gcacagaagt tccagggcag agtctccatg accacagaca catcaacgag gacagcctac 240

atggaggtgc ggagcctcag acctgacgac acggccgtat actactgtgc gagagagccc 300

cccctgtatt tcagtagctg gtctctcgac ttc 333

<210> 50

<211> 111

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> SC08-041 VH PROTEIN

<400> 50

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

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Glu Ile Lys Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

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

<210> 51  
<211> 294  
<212> ADN  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-041 VL ADN

<400> 51  
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
ctctcctgca gggccagtca gagtggttagc agcaactact tagcctgggtt ccagcagaaa 120  
cctgggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcaa ggagggccac tggcatccca 180  
gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
cctgaagatt ttgcagtgtta ttactgtcag cagtatgata gctcacctcg gacg 294

<210> 52  
<211> 98  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-041 VL PROTEIN

<400> 52

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1                      5                      10                      15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn  
                     20                      25                      30  
 Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
                     35                      40                      45  
 Ile Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
                     50                      55                      60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
                     65                      70                      75                      80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Pro  
                     85                      90                      95

Arg Thr

<210> 53  
 <211> 330  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-043 VH ADN

<400> 53  
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaagctt 60  
 tcctgcaagg cttctggata caccttcact gcctattcta tgcattgggt gcgccaggcc 120  
 cccggacaaa gccttgagtg gttgggatgg atcaacactg ccatcggtaa cacacaatat 180  
 tcacagaagt tccaggacag agtcaccatt accagggaca catctgcgcg cacatcgtag 240  
 atggaactga gcagcctgag atctggagac acggctgtct atttctgtgc gagagggggc 300  
 tcttgggacg cccgtgggtg gtctggctac 330

<210> 54  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-043 VH PROTEIN

<400> 54

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Ala Ser Trp Asp Ala Arg Gly Trp Ser Gly Tyr  
100 105 110

<210> 55  
<211> 309  
<212> ADN  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-043 VL ADN

<400> 55  
gacatccagw tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60  
atcaactgca agtccagcca gagtgTTTT tccagctcca ccaataagaa ctacttagct 120  
tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aaggtgctaa tttactgggtc atctaccgg 180  
gaatccgggg tccctgaccg attcagtgcc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240  
atcagcagcc tgcaggctgc agatgtggca gtttattact gtcaccaata ttatactgct 300  
ccgtggacg 309

<210> 56  
<211> 103  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-043 VL PROTEIN

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (4)..(4)  
<223> Xaa có thể là axit amin tự nhiên bất kỳ

<400> 56

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

[illegible]

|       |          |
|-------|----------|
| <210> | 57       |
| <211> | 345      |
| <212> | ADN      |
| <213> | Nhân tạo |

<220>  
<223> SC08-049 VH ADN

[illegible]

|       |          |
|-------|----------|
| <210> | 58       |
| <211> | 115      |
| <212> | PRT      |
| <213> | Nhân tạo |

<220>  
<223> SC08-049 VH PROTEIN

<400> 58

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

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

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Thr Ser Tyr Arg Thr Ser  
50 55 60

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

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

Cys Ala Arg Ile Gly Ser Gly Tyr Glu Ser Ser Ala Tyr Ser Thr Trp  
100 105 110

Leu Asp Pro  
115

<210> 59  
<211> 98  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-049 VL PROTEIN

<400> 59

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

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

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

Asn Asp Arg Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

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

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

Thr Val

<210> 60  
 <211> 339  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-050 VH ADN

<400> 60  
 caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctattgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgcgctg tgtatggtgg gtcgttcact gatcactact ggagctggat ccgccagtcc 120  
 ccaggggaagg ggctggagtg gattggtgaa gtcgttcata gtggagacac caactacacc 180  
 ccgtccctca gaaatcgagt ttccatatcg gtcgactcgt ccaagaatca gttctccctg 240  
 aggctggggg ctgtgaccgc cgcgacacg gctgtctatt actgtgcgag aggcaggaat 300  
 gttgcggtag ttggtgctat tcagaggcac tatgactac 339

<210> 61  
 <211> 113  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-050 VH PROTEIN

<400> 61

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Thr Asp His  
 20 25 30  
 Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45  
 Gly Glu Val Val His Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Arg  
 50 55 60  
 Asn Arg Val Ser Ile Ser Val Asp Ser Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Arg Leu Gly Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
 Arg Gly Arg Asn Val Ala Val Val Gly Ala Ile Gln Arg His Tyr Asp  
 100 105 110

Tyr

<210> 62  
 <211> 294  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-050 VL ADN

<400> 62  
 gaaattgtga tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gagtggttagc agaaactact tagcctggta ccagcagaag 120  
 cctggcctgg ctcccaggct cctcatctct ggtgcatcga gcagggccac tggcgtccca 180  
 gacaggttca gtggcagggg gtctgacaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240  
 cctgaagatt ttgccgtgta ttactgtcag cactatgggt cggtccttgt agct 294

<210> 63  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-050 VL PROTEIN

<400> 63

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

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

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

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

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

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

Val Ala

<210> 64

<211> 357  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-052 VH ADN

<400> 64  
 cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
 acctgcactg tctctggtgg ctccgtcagc agtgggtactt actactggag ctggatccgg 120  
 cagccccag ggaagggact ggagtggatt ggggatatct cttacagtgg gagcaccaac 180  
 tacaaccctt ccctcaagag tcgagtcacc atttctagag acacgtcca gaacctggtc 240  
 tccctgaagc tgacctctgt gaccgtgctg gacacggccg tgcattactg tgcgagagcg 300  
 atggcggttt ataattatga caggggtggt tataacgact actactacat ggacgtc 357

<210> 65  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-052 VH PROTEIN

<400> 65  
 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 Thr Val Ser Gly Gly Ser Val Ser Ser Gly  
 20 25 30  
 Thr Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Ile Gly Asp Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser  
 50 55 60  
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Leu Val  
 65 70 75 80  
 Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val His Tyr  
 85 90 95  
 Cys Ala Arg Ala Met Ala Ala Tyr Asn Tyr Asp Arg Gly Gly Tyr Asn  
 100 105 110  
 Asp Tyr Tyr Tyr Met Asp Val  
 115

<210> 66  
 <211> 291  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-052 VL ADN

<400> 66  
 gacatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaac acctatttaa attggtatca gcaaaaacca 120  
 gggaaggccc ctaagggtcct gatctttgct gcatccactt tgcaaagtgg agtcccatca 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagaa ttcactctca acatcaacaa tctgcaacct 240  
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ctgcgatcac t 291

<210> 67  
 <211> 97  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-052 VL PROTEIN

<400> 67

Asp Ile Gln Leu 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 Asn Thr Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

Thr

<210> 68  
 <211> 333  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SC08-055 VH ADN

&lt;400&gt; 68

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcgg cgtctggatt cagcttcacc acctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggccttt atttggtatg atggaagtaa caaacactat 180  
 caagactccg tgaagggccg attcaccatc tccaaggaca attccaacaa catgttgtat 240  
 ctgcaaatgg acagcctgag agtcgccgac acggctgttt attactgtgt gagagatggg 300  
 ggatatagca cctgggaatg gtacttcgat ctc 333

&lt;210&gt; 69

&lt;211&gt; 111

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SC08-055 VH PROTEIN

&lt;400&gt; 69

Glu 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 Thr Thr Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

&lt;210&gt; 70

&lt;211&gt; 291

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SC08-055 VL ADN

<400> 70  
 gaaattgtgc tgactcagtc tccagacttt cagtctgtgg ctccaaagga gaaagtcacc 60  
 atcacctgcc gggccagtcg gagcattggt agtgacttgc actgggttca gcagaggcca 120  
 gatcagtcctc caaagctcct catcaagttt gcttcccagt ccatgtcagg ggtcccctcg 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggagagat ttcacctca ccatcagtag cctggaggct 240  
 gaagatgctg ctacgtatta ctgtcatcag agtagtagtt taccgctcac t 291

<210> 71  
 <211> 97  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-055 VL PROTEIN

<400> 71

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

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

Leu His Trp Phe Gln Gln Arg Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Lys Phe Ala Ser Gln Ser Met Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

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

Thr

<210> 72  
 <211> 348  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-057 VH ADN

<400> 72

gaggtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtccaac ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctgggtt caccgacagt gtcatttca tgagttgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg tgtctcaatt atttatatcg atgattccac atactacgca 180  
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agacacaatt ccatgggcac agtgtttctt 240  
gaaatgaaca gcctgagacc tgacgacacg gccgtctatt actgtgcgac agagagcgga 300  
gactttggtg accaaacggg tccctatcat tactacgcta tggacgtc 348

<210> 73  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-057 VH PROTEIN (

<400> 73

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 Asp Ser Val Ile  
20 25 30

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

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

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

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

Thr Glu Ser Gly Asp Phe Gly Asp Gln Thr Gly Pro Tyr His Tyr Tyr  
100 105 110

Ala Met Asp Val  
115

<210> 74  
<211> 300  
<212> ADN  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-057 VL ADN

<400> 74

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcctgcactg gaagcagcgg tgacattggt ggttataacg ctgtctcctg gtaccaacac 120

cacccaggca aagcccccaa actgatgatt tatgagggtca ctagtcggcc ctcaggggtt 180  
 tccgatcgct tctctgcgtc caggtctggc gacacggcct ccctgactgt ctctgggtctc 240  
 caggctgagg acgagggtca ctattactgc tgctcatttg cagacagcaa cattttgatt 300

<210> 75  
 <211> 100  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-057 VL PROTEIN

<400> 75

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 Ser Ser Gly Asp Ile Gly Gly Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

Asn Ile Leu Ile  
 100

<210> 76  
 <211> 336  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-069 VH ADN

<400> 76

gaggtgcagc tgggtggagac tgggggagtc gtggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggctt cacgtttgag gattatacca tgcactgggt ccgtcaagtt 120  
 ccggggaagg gtctggagtg ggtcgcgtc attagttggg atggcggtat gtcaaactat 180  
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acagcaaaaa ctctctgtat 240

ctgcaagtga gcagtctgag aagtgaagac accgccctgt attactgtgc aaaagatata 300  
cgaccccgta tgccagctcg tcactttatg gacgtc 336

<210> 77  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-069 VH PROTEIN

<400> 77

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Asp Ile Arg Pro Arg Met Pro Ala Arg His Phe Met Asp Val  
100 105 110

<210> 78  
<211> 297  
<212> ADN  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> SC08-069 VL ADN

<400> 78

gaaattgtgt tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccggggga aagagccacc 60  
ctctcctgca gggccagtc gaattgtcaac tacaacttag cctggtacca gcagaaacct 120  
ggccaggctc ccaggctcct catctatgtt gcatccacca gggccactgg tatcccagac 180  
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag tctgcagtct 240  
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggcctccggc gatcact 297

<210> 79  
 <211> 99  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> SC08-069 VL PROTEIN

<400> 79

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

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

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

Tyr Val Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp 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 Pro Pro  
 85 90 95

Ala Ile Thr

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

<220>  
 <223> HCDR1

<400> 80

Ser Asn Tyr Val Ser  
 1 5

<210> 81  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR2

<400> 81

Leu Ile Tyr Thr Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 82  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR3

<400> 82

Val Ser Ala Leu Arg Phe Leu Gln Trp Pro Asn Tyr Ala Met Asp Val  
 1 5 10 15

<210> 83  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR1

<400> 83

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

<210> 84  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR2

<400> 84

Glu Val Ser His Arg Pro Ser  
 1 5

<210> 85  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR3

<400> 85

Ser Ser Tyr Thr Gly Glu Gly Pro Leu Gly Val  
 1 5 10

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

<220>  
<223> HCDR1

<400> 86

Ser Tyr Trp Met Ser  
1 5

<210> 87  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR2

<400> 87

Asn Met Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 88  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR3

<400> 88

Gly Ser Cys Asp Asp Ser Trp Thr Gly Cys His Asp Ala Phe Asp Ile  
1 5 10 15

<210> 89  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR1

<400> 89

Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His  
1 5 10

<210> 90  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR2

<400> 90

Asp Ser Ala Arg Pro Ser  
1 5

<210> 91  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR3

<400> 91

Gln Val Trp Glu Ser Gly Ser Asp Leu Arg Leu Leu  
1 5 10

<210> 92  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR1

<400> 92

Gly Gly Asp Asn Ile Gly Arg Lys Ser Val His  
1 5 10

<210> 93  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR2

<400> 93

Asp Asn Ser Asp Arg Pro Ser  
1 5

<210> 94  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR3

<400> 94

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

<210> 95  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR1

<400> 95

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His  
 1 5 10

<210> 96  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR2

<400> 96

Gly Asn Asn Asn Arg Pro Ser  
 1 5

<210> 97  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR3

<400> 97

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Val Tyr Val  
 1 5 10

<210> 98  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR1

<400> 98

Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser  
 1 5 10

<210> 99  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR2

<400> 99

Ala Lys Thr Asn Arg Pro Ser  
1 5

<210> 100  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR3

<400> 100

Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Val Val  
1 5 10

<210> 101  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR1

<400> 101

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser  
1 5 10

<210> 102  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR1

<400> 102

Thr Ser Ala Met Ser  
1 5

<210> 103  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR2

<400> 103

Gly Ile Ser Gly Ser Gly Ala Thr Thr Tyr Tyr Ala Gly Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 104  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR3

<400> 104

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

Asn Ala Phe Asp Ile  
 20

<210> 105  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR1

<400> 105

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Tyr Leu Asn  
 1 5 10

<210> 106  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR2

<400> 106

Gly Ala Ser Thr Leu Gln Ser  
 1 5

<210> 107  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR3

<400> 107

Gln Gln Thr Tyr Thr Ser Pro Pro Tyr Ala  
 1 5 10

<210> 108  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR1

<400> 108

Arg Phe Gly Val Ser  
 1 5

<210> 109  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR2

<400> 109

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
 1 5 10 15

Ala

<210> 110  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR3

<400> 110

Glu Pro Pro Leu Phe Tyr Ser Ser Trp Ser Leu Asp Asn  
 1 5 10

<210> 111  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR1

<400> 111

Ala Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Met Asn Tyr Leu Ala  
 1 5 10

<210> 112  
 <211> 7

<212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR2

<400> 112

Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr  
 1 5

<210> 113  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR3

<400> 113

Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Arg Thr  
 1 5

<210> 114  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR1

<400> 114

Ala Tyr Ala Met Asn  
 1 5

<210> 115  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR2

<400> 115

Ala Ile Gly Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15

Gly

<210> 116  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HCDR3

&lt;400&gt; 116

Gly Arg Asp Trp Thr Gly Gly Tyr Phe Phe Asp Ser  
 1 5 10

&lt;210&gt; 117

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; LCDR1

&lt;400&gt; 117

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

Thr

&lt;210&gt; 118

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; LCDR2

&lt;400&gt; 118

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser  
 1 5

&lt;210&gt; 119

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; LCDR3

&lt;400&gt; 119

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ile Pro Tyr Thr  
 1 5

&lt;210&gt; 120

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HCDR1

<400> 120

Gly Tyr Ala Met Ser  
1 5

<210> 121  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR2

<400> 121

Asp Ile Gly Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 122  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR3

<400> 122

Ser Ser Ser Trp Asp Arg Ala Tyr Phe Phe Asp Ser  
1 5 10

<210> 123  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR1

<400> 123

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Ile His Lys Asn Tyr Leu  
1 5 10 15

Ala

<210> 124  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR3

&lt;400&gt; 124

Gln Gln Tyr Tyr Arg Ser Pro Pro Thr  
1 5

&lt;210&gt; 125

&lt;211&gt; 5

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HCDR1

&lt;400&gt; 125

Ser Tyr Tyr Trp Ser  
1 5

&lt;210&gt; 126

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HCDR2

&lt;400&gt; 126

Tyr Ile Tyr Tyr Arg Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser  
1 5 10 15

&lt;210&gt; 127

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HCDR3

&lt;400&gt; 127

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

&lt;210&gt; 128

&lt;211&gt; 14

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; LCDR1

&lt;400&gt; 128

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser  
1 5 10

<210> 129  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR2

<400> 129

Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser  
 1 5

<210> 130  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR3

<400> 130

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Asn Leu Ile  
 1 5 10

<210> 131  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR1

<400> 131

Ser Tyr Gly Met His  
 1 5

<210> 132  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR2

<400> 132

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

Gly

<210> 133  
 <211> 13  
 <212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HCDR3

<400> 133

Asp Gly Gly Tyr Ser Thr Trp Glu Trp Tyr Phe Asp Leu  
1 5 10

<210> 134

<211> 11

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LCDR1

<400> 134

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gly Ser Asn Leu His  
1 5 10

<210> 135

<211> 7

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LCDR2

<400> 135

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Thr  
1 5

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LCDR3

<400> 136

His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Leu Thr  
1 5

<210> 137

<211> 5

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HCDR1

<400> 137

Ser Phe Gly Leu Ser  
1 5

<210> 138  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR2

<400> 138

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Glu Ile Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1 5 10 15

Gly

<210> 139  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR3

<400> 139

Glu Pro Pro Leu Tyr Phe Ser Ser Trp Ser Leu Asp Phe  
1 5 10

<210> 140  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR1

<400> 140

Ala Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Tyr Leu Ala  
1 5 10

<210> 141  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR2

<400> 141

Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr  
1 5

<210> 142  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR3

<400> 142

Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Pro Arg Thr  
 1 5

<210> 143  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR1

<400> 143

Ala Tyr Ser Met His  
 1 5

<210> 144  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR2

<400> 144

Trp Ile Asn Thr Ala Ile Gly Asn Thr Gln Tyr Ser Gln Lys Phe Gln  
 1 5 10 15

Asp

<210> 145  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR3

<400> 145

Gly Ala Ser Trp Asp Ala Arg Gly Trp Ser Gly Tyr  
 1 5 10

<210> 146  
 <211> 17

<212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR1

<400> 146

Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Ser Ser Ser Thr Asn Lys Asn Tyr Leu  
 1 5 10 15

Ala

<210> 147  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR2

<400> 147

Trp Ser Ser Thr Arg Glu Ser  
 1 5

<210> 148  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR3

<400> 148

His Gln Tyr Tyr Thr Ala Pro Trp Thr  
 1 5

<210> 149  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR1

<400> 149

Asn Thr Arg Met Gly Val Ser  
 1 5

<210> 150  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HCDR2

&lt;400&gt; 150

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

&lt;210&gt; 151

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HCDR3

&lt;400&gt; 151

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

&lt;210&gt; 152

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; LCDR1

&lt;400&gt; 152

Glu Gly Asp Thr Ile Gly Ser Lys Ser Val His  
 1 5 10

&lt;210&gt; 153

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; LCDR2

&lt;400&gt; 153

Asn Asp Arg Asp Arg Pro Ser  
 1 5

&lt;210&gt; 154

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; LCDR3

&lt;400&gt; 154

Gln Val Trp Glu Ser Gly Gly Asp Gln Thr Val  
 1 5 10

<210> 155  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR1

<400> 155

Asp His Tyr Trp Ser  
 1 5

<210> 156  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR2

<400> 156

Glu Val Val His Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Arg Asn  
 1 5 10 15

<210> 157  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR3

<400> 157

Gly Arg Asn Val Ala Val Val Gly Ala Ile Gln Arg His Tyr Asp Tyr  
 1 5 10 15

<210> 158  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR1

<400> 158

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Asn Tyr Leu Ala  
 1 5 10

<210> 159  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR2

<400> 159

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr  
1 5

<210> 160  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR3

<400> 160

Gln His Tyr Gly Ser Val Leu Val Ala  
1 5

<210> 161  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR1

<400> 161

Ser Gly Thr Tyr Tyr Trp Ser  
1 5

<210> 162  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR2

<400> 162

Asp Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser  
1 5 10 15

<210> 163  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR3

<400> 163

Ala Met Ala Ala Tyr Asn Tyr Asp Arg Gly Gly Tyr Asn Asp Tyr Tyr  
1 5 10 15

Tyr Met Asp Val  
20

<210> 164  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR1

<400> 164

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Thr Tyr Leu Asn  
1 5 10

<210> 165  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR2

<400> 165

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser  
1 5

<210> 166  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR3

<400> 166

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Ala Ile Thr  
1 5

<210> 167  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR1

<400> 167

Thr Tyr Gly Met His  
1 5

<210> 168

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

<220>  
 <223> HCDR2

<400> 168

Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Gln Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15

Gly

<210> 169  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> HCDR3

<400> 169

Asp Gly Gly Tyr Ser Thr Trp Glu Trp Tyr Phe Asp Leu  
 1 5 10

<210> 170  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR1

<400> 170

Arg Ala Ser Arg Ser Ile Gly Ser Asp Leu His  
 1 5 10

<210> 171  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR2

<400> 171

Phe Ala Ser Gln Ser Met Ser  
 1 5

<210> 172  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR1

<400> 172

Val Ile Phe Met Ser  
1 5

<210> 173  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR2

<400> 173

Ile Ile Tyr Ile Asp Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
1 5 10 15

<210> 174  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> HCDR3

<400> 174

Glu Ser Gly Asp Phe Gly Asp Gln Thr Gly Pro Tyr His Tyr Tyr Ala  
1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 175  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR1

<400> 175

Thr Gly Ser Ser Gly Asp Ile Gly Gly Tyr Asn Ala Val Ser  
1 5 10

<210> 176  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Nhân tạo

<220>  
<223> LCDR2

<400> 176

Glu Val Thr Ser Arg Pro Ser  
1 5

<210> 177

<211> 10

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> LCDR3

<400> 177

Cys Ser Phe Ala Asp Ser Asn Ile Leu Ile  
1 5 10

<210> 178

<211> 5

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HCDR1

<400> 178

Asp Tyr Thr Met His  
1 5

<210> 179

<211> 17

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HCDR2

<400> 179

Leu Ile Ser Trp Asp Gly Gly Met Ser Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 180

<211> 14

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> HCDR3

<400> 180

Asp Ile Arg Pro Arg Met Pro Ala Arg His Phe Met Asp Val  
 1 5 10

<210> 181  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR1

<400> 181

Arg Ala Ser Gln Asn Val Asn Tyr Asn Leu Ala  
 1 5 10

<210> 182  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR2

<400> 182

Val Ala Ser Thr Arg Ala Thr  
 1 5

<210> 183  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> LCDR3

<400> 183

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Pro Ala Ile Thr  
 1 5 10

<210> 184  
 <211> 1353  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> CR6261 HC ADN

<400> 184  
 gaggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaagtc 60  
 tcttgcaagg cttctggagg ccccttccgc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120  
 cctggacaag ggcctgagtg gatgggaggg atcatcccta tttttggtac aacaaaatac 180  
 gcaccgaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg atttcgcggg cacagtttac 240

```

atggagctga gcagcctgcg atctgaggac acggccatgt actactgtgc gaaacatatg 300
gggtaccagg tgcgcgaaac tatggacgtc tggggcaaag ggaccacggt caccgtctcg 360
agtgctagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcaccagc 420
ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtg aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg 480
agctggaaca gcggcgcctt gaccagcggc gtgcacacct tccccgccgt gctgcagagc 540
agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtg accgtgcca gcagcagcct gggcaccag 600
acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa acgcgtggag 660
cccaagagct gcgacaagac ccacacctgc cccccctgcc ctgccccga gctgctgggc 720
ggaccctccg tgttcctggt ccccccaag cccaaggaca ccctcatgat cagccggacc 780
cccgaggtga cctgcgtggt ggtggacgtg agccacgagg accccgaggt gaagttcaac 840
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcacaac gccaagacca agccccggga ggagcagtac 900
aacagcacct accgggtggt gagcgtgctc accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
aaggagtaca agtgcaaggt gagcaacaag gccctgcctg ccccatcga gaagaccatc 1020
agcaaggcca agggccagcc ccgggagccc caggtgtaca ccctgcccc cagccgggag 1080
gagatgacca agaaccaggt gtcctcacc tgtctggtga agggcttcta cccagcgac 1140
atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cccgagaaca actacaagac cccccccct 1200
gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg tacagcaagc tcaccgtgga caagagccgg 1260
tggcagcagg gcaacgtggt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320
acccagaaga gcctgagcct gagccccggc aag 1353

```

<210> 185  
 <211> 451  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> CR6261 HC PROTEIN

<400> 185

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Asp Phe Ala Gly Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys His Met Gly Tyr Gln Val Arg Glu Thr Met Asp Val Trp Gly  
 100 105 110  
 Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 115 120 125  
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 130 135 140  
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160  
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175  
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190  
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 195 200 205  
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 210 215 220  
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 225 230 235 240  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 245 250 255  
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 260 265 270  
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 275 280 285  
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 290 295 300  
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

305                      310                      315                      320  
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
                                  325                                   330                                   335  
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
                                  340                                   345                                   350  
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
                                  355                                   360                                   365  
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
                                  370                                   375                                   380  
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
                                  385                                   390                                   395                                   400  
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
                                  405                                   410                                   415  
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
                                  420                                   425                                   430  
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
                                  435                                   440                                   445  
 Pro Gly Lys  
                                  450

<210> 186  
 <211> 663  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> CR6261 LC ADN

<400> 186  
 cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60  
 tcctgtctctg gaagcagctc caacattggg aatgattatg tatcctggta ccagcagctc 120  
 ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gacaataata agcgaccctc agggattcct 180  
 gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240  
 actggggacg aggccaacta ttactgcgca acatgggatc gccgcccgcac tgcttatggt 300  
 gtcttcggcg gagggaccaa gctgaccgtc ctaggtgcgg ccgcaggcca gcccaaggcc 360  
 gctcccagcg tgaccctggt cccccctcc tccgaggagc tgcaggccaa caaggccacc 420  
 ctggtgtgcc tcatcagcga cttctaccct ggcgccgtga ccgtggcctg gaaggccgac 480

agcagccccg tgaaggccgg cgtggagacc accacccccca gcaagcagag caacaacaag 540  
 tacgccgcca gcagctacct gagcctcacc cccgagcagt ggaagagcca ccggagctac 600  
 agctgccagg tgaccacga gggcagcacc gtggagaaga ccgtggcccc caccgagtgc 660  
 agc 663

<210> 187  
 <211> 221  
 <212> PRT  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> CR6261 LC PROTEIN

<400> 187

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

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

Thr Gly Asp Glu Ala Asn Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Arg Arg Pro  
 85 90 95

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

Ala Ala Ala Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro  
 115 120 125

Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu  
 130 135 140

Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp  
 145 150 155 160

Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln  
 165 170 175

Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu  
 180 185 190

Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly  
 195 200 205

Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215 220

<210> 188  
 <211> 10515  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> Vector pIg-C911-HCgama

<400> 188  
 tcgacggatc gggagatctc ccgatcccct atggtgcact ctgagtacaa tctgctctga 60  
 tgccgcatag ttaagccagt atctgctccc tgcttggtg ttggagggtcg ctgagtagtg 120  
 cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggcttgacc gacaattgca tgaagaatct 180  
 gcttaggggtt aggcgttttg cgctgcttcg ctaggtggtc aatattggcc attagccata 240  
 ttattcattg gttatatagc ataaatcaat attggctatt ggccattgca tacgttggtat 300  
 ccatatcata atatgtacat ttatatggc tcatgtccaa cattaccgcc atgttgacat 360  
 tgattattga ctagttatta atagtaatca attacgggt cattagttca tagcccatat 420  
 atggagttcc gcgttacata acttacggt aatggccgc ctggctgacc gccaacgac 480  
 ccccgcccat tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc 540  
 cattgacgtc aatgggtgga gtatttacgg taaactgcc acttggcagt acatcaagtg 600  
 tatcatatgc caagtacgcc ccctattgac gtcaatgac gtaaatggcc cgctggcat 660  
 tatgcccagt acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc 720  
 atcgctatta ccatggtgat gcggttttg cagtacatca atgggcgtgg atagcggttt 780  
 gactcacggg gatttccaag tctccacccc attgacgtca atgggagttt gttttggcac 840  
 caaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg cccattgac gcaaatgggc 900  
 ggtaggcgtg tacggtggga ggtctatata agcagagctc gtttagtgaa ccgtcagatc 960  
 gcctggagac gccatccacg ctgttttgac ctccatagaa gacaccggga ccgatccagc 1020  
 ctccgcggcc gggaacggtg cattggaagc tggcctggat atcctgactc tcttaggtag 1080  
 ctttgagaa gttggtcgtg aggcactggg caggtaagta tcaaggttac aagacaggtt 1140  
 taaggagatc aatagaaact gggcttgctg agacagagaa gactcttgcg tttctgatag 1200  
 gcacctattg gtcttactga catccacttt gcctttctct ccacaggtgt ccactcccag 1260

|             |             |            |            |             |             |      |
|-------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|------|
| ttcaattaca  | gctcgccacc  | atgggatgga | gctgtatcat | cctcttcttg  | gtactgctgc  | 1320 |
| tggcccagcc  | ggccagtgac  | cttgaccggt | gcaccacttt | tgatgatggt  | caagctccta  | 1380 |
| attacactca  | acatacttca  | tctatgaggg | gggtttacta | tcctgatgaa  | atTTTTtagat | 1440 |
| cggacactct  | ttattttaact | caggatttat | ttcttccatt | ttatttcaat  | gttacagggt  | 1500 |
| ttcatactat  | taatcatacg  | tttggaacc  | ctgtcatacc | ttttaaggat  | ggtattttatt | 1560 |
| ttgctgccac  | agagaaatca  | aatgttgtcc | gtggttggtt | ttttggttct  | accatgaaca  | 1620 |
| acaagtcaca  | gtcggtgatt  | attattaaca | attctactaa | tggtgttata  | cgagcatgta  | 1680 |
| actttgaatt  | gtgtgacaac  | cctttctttg | ctgtttctaa | acccatgggt  | acacagacac  | 1740 |
| atactatgat  | attcgataat  | gcatttaatt | gcactttcga | gtacatatct  | gatgcctttt  | 1800 |
| cgcttgatgt  | ttcagaaaag  | tcaggtaatt | ttaaacactt | acgagagttt  | gtgttttaaaa | 1860 |
| ataaagatgg  | gtttctctat  | gtttataagg | gctatcaacc | tatagatgta  | gttcgtgatc  | 1920 |
| taccttctgg  | ttttaacact  | ttgaaacctt | tttttaagtt | gcctcttggt  | attaacatta  | 1980 |
| caaatttttag | agccattctt  | acagcctttt | cacctgctca | agacatttgg  | ggcacgtcag  | 2040 |
| ctgcagccta  | ttttgttggc  | tattttaagc | caactacatt | tatgctcaag  | tatgatgaaa  | 2100 |
| atggtacaat  | cacagatgct  | gttgattgtt | ctcaaaatcc | acttgctgaa  | ctcaaatgct  | 2160 |
| ctgttaagag  | ctttgagatt  | gacaaaggaa | tttaccagac | ctctaatttc  | agggttgttc  | 2220 |
| cctcaggaga  | tgttgtgaga  | ttccctaata | ttacaaactt | gtgtcctttt  | ggagagggtt  | 2280 |
| ttaatgctac  | taaattccct  | tctgtctatg | catgggagag | aaaaaaaaatt | tctaattgtg  | 2340 |
| ttgctgatta  | ctctgtgctc  | tacaactcaa | catttttttc | aacctttaag  | tgctatggcg  | 2400 |
| tttctgccac  | taagttgaat  | gatctttgct | tctccaatgt | ctatgcagat  | tctttttag   | 2460 |
| tcaagggaga  | tgatgtaaga  | caaatagcgc | caggacaaac | tggtgttatt  | gctgattata  | 2520 |
| attataaatt  | gccagatgat  | ttcatgggtt | gtgtccttgc | ttggaatact  | aggaacattg  | 2580 |
| atgctacttc  | aactggtaat  | tataattata | aatataggta | tcttagacat  | ggcaagctta  | 2640 |
| ggccctttga  | gagagacata  | tctaattgtc | ctttctcccc | tgatggcaaa  | ccttgcaccc  | 2700 |
| cacctgctct  | taattgttat  | tggccattaa | atgattatgg | tttttacacc  | actactggca  | 2760 |
| ttggctacca  | accttacaga  | gttgtagtac | tttcttttga | acttttaaat  | gcaccggcca  | 2820 |
| cggtttgtgg  | accaaaatta  | tccactgacc | ttattaagaa | ccagtgtgtc  | aatttttaatt | 2880 |
| ttaatggact  | cactgggtact | ggtgtgttaa | ctccttcttc | aaagagattt  | caaccatttc  | 2940 |
| aacaatttgg  | ccgtgatggt  | tctgatttca | ctgattccgt | tcgagatcct  | aaaacatctg  | 3000 |
| aaatattaga  | catttcacct  | tgctcttttg | ggggtgtaag | tgtaattaca  | cctggaacaa  | 3060 |
| atgcttcac   | tgaagttgct  | gttctatata | aagatgttaa | ctgcactgat  | gtttctacag  | 3120 |

|             |            |             |             |             |             |      |
|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| caattcatgc  | agatcaactc | acaccagctt  | ggcgcatata  | ttctactgga  | aacaatgtat  | 3180 |
| tccagactca  | ggcaggctgt | cttataggag  | ctgagcatgt  | cgacacttct  | tatgagtgcg  | 3240 |
| acattcctat  | tggagctggc | atttgtgcta  | gttaccatac  | agtttcttta  | ttacgtagta  | 3300 |
| ctagccaaaa  | atctattgtg | gcttatacta  | tgtcttttagg | tgctgatagt  | tcaattgctt  | 3360 |
| actctaataa  | caccattgct | atacctacta  | acttttcaat  | tagcattact  | acagaagtaa  | 3420 |
| tgctgtttc   | tatggctaaa | acctccgtag  | attgtaatat  | gtacatctgc  | ggagattcta  | 3480 |
| ctgaatgtgc  | taatttgctt | ctccaatatg  | gtagcttttg  | cacacaacta  | aatcgtgcac  | 3540 |
| tctcaggtat  | tgctgctgaa | caggatcgca  | acacacgtga  | agtgttcgct  | caagtcaaac  | 3600 |
| aaatgtacaa  | aaccccaact | ttgaaatatt  | ttggtggttt  | taatttttca  | caaataattac | 3660 |
| ctgaccctct  | aaagccaact | aagaggctct  | ttattgagga  | cttgctcttt  | aataagggtga | 3720 |
| cactcgctga  | tgctggcttc | atgaagcaat  | atggcgaatg  | cctagggtgat | attaatgcta  | 3780 |
| gagatctcat  | ttgtgcgcag | aagttcaatg  | gacttacagt  | gttgccacct  | ctgctcactg  | 3840 |
| atgatatgat  | tgctgcctac | actgctgctc  | tagttagtgg  | tactgccact  | gctggatgga  | 3900 |
| catttggtgc  | tggcgctgct | cttcaaatac  | cttttgctat  | gcaaattggca | tataggttca  | 3960 |
| atggcattgg  | agttacccaa | aatgttctct  | atgagaacca  | aaaacaaatc  | gccaaccaat  | 4020 |
| ttaacaaggc  | gattagtcaa | attcaagaat  | cacttacaac  | aacatcaact  | gcattgggca  | 4080 |
| agctgcaaga  | cgttgttaac | cagaatgctc  | aagcattaaa  | cacacttggt  | aaacaactta  | 4140 |
| gctctaattt  | tggtgcaatt | tcaagtgtgc  | taaatgatat  | cctttcgcgga | cttgataaag  | 4200 |
| tcgaggcgga  | ggtacaaatt | gacagggttaa | ttacaggcag  | acttcaaagc  | cttcaaacct  | 4260 |
| atgtaacaca  | acaactaatc | agggctgctg  | aaatcagggc  | ttctgctaata | cttgctgcta  | 4320 |
| ctaaaatgtc  | tgagtgtggt | cttggaacat  | caaaaagagt  | tgacttttgt  | ggaaagggct  | 4380 |
| accaccttat  | gtccttccca | caagcagccc  | cgcatgggtg  | tgtcttccta  | catgtcacgt  | 4440 |
| atgtgccatc  | ccaggagagg | aacttcacca  | cagcgccagc  | aatttgtcat  | gaaggcaaag  | 4500 |
| catacttccc  | tcgtgaagg  | gtttttgtgt  | ttaatggcac  | ttcttggttt  | attacacaga  | 4560 |
| ggaacttctt  | ttctccacaa | ataattacta  | cagacaatac  | atttgtctca  | ggaaattgtg  | 4620 |
| atgtcgttat  | tggcatcatt | aacaacacag  | tttatgatcc  | tctgcaacct  | gagcttgact  | 4680 |
| cattcaaaga  | agagctggac | aagtacttca  | aaaatcatac  | atcaccagat  | gttgattttg  | 4740 |
| gcgacatttc  | aggcattaac | gcttctgtcg  | tcaacattca  | aaaagaaatt  | gaccgcctca  | 4800 |
| atgaggtcgc  | taaaaattta | aatgaatcac  | tcattgacct  | tcaagaactg  | ggaaaatatg  | 4860 |
| agcaatatat  | taaatggcct | ctcgacgaac  | aaaaactcat  | ctcagaagag  | gatctgaatg  | 4920 |
| ctgtggggcca | ggacacgcag | gaggtcatcg  | tggtgccaca  | ctccttgccc  | tttaagggtg  | 4980 |
| tggtgatctc  | agccatcctg | gccctgggtg  | tgctcaccat  | catctccctt  | atcatcctca  | 5040 |

|             |            |            |            |            |             |      |
|-------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------|
| tcattgctttg | gcagaagaag | ccacgttagg | cggccgctcg | agtgctagca | ccaagggccc  | 5100 |
| cagcgtgttc  | cccctggccc | ccagcagcaa | gagcaccagc | ggcggcacag | ccgccctggg  | 5160 |
| ctgcctggtg  | aaggactact | tccccgagcc | cgtgaccgtg | agctggaaca | gcggcgcctt  | 5220 |
| gaccagcggc  | gtgcacacct | tccccgccgt | gctgcagagc | agcggcctgt | acagcctgag  | 5280 |
| cagcgtggtg  | accgtgcccc | gcagcagcct | gggcacccag | acctacatct | gcaacgtgaa  | 5340 |
| ccacaagccc  | agcaacacca | aggtggacaa | acgcgtggag | cccaagagct | gcgacaagac  | 5400 |
| ccacacctgc  | ccccctgcc  | ctgccccga  | gctgctgggc | ggaccctccg | tgttcctggt  | 5460 |
| ccccccaag   | cccaaggaca | ccctcatgat | cagccggacc | cccgaggaga | cctgcgtggt  | 5520 |
| ggtggacgtg  | agccacgagg | accccgaggt | gaagttcaac | tggtacgtgg | acggcgtgga  | 5580 |
| ggtgcacaac  | gccaagacca | agccccggga | ggagcagtac | aacagcacct | accgggtggt  | 5640 |
| gagcgtgctc  | accgtgctgc | accaggactg | gctgaacggc | aaggagtaca | agtgaaggt   | 5700 |
| gagcaacaag  | gccctgcctg | ccccatcga  | gaagaccatc | agcaaggcca | agggccagcc  | 5760 |
| ccgggagccc  | caggtgtaca | ccctgcccc  | cagccgggag | gagatgacca | agaaccaggt  | 5820 |
| gtccctcacc  | tgtctggtga | agggcttcta | cccagcgc   | atcgccgtgg | agtgggagag  | 5880 |
| caacggccag  | cccgagaaca | actacaagac | cacccccct  | gtgctggaca | gcgacggcag  | 5940 |
| cttcttctg   | tacagcaagc | tcaccgtgga | caagagccgg | tggcagcagg | gcaacgtggt  | 6000 |
| cagctgcagc  | gtgatgcacg | aggccctgca | caaccactac | accagaaga  | gcctgagcct  | 6060 |
| gagccccggc  | aagtgataat | ctagagggcc | cgtttaaac  | cgctgatcag | cctcgactgt  | 6120 |
| gccttctagt  | tgccagccat | ctgttgtttg | cccctcccc  | gtgccttcct | tgaccctgga  | 6180 |
| aggtgccact  | cccactgtcc | tttcctaata | aatgaggaa  | attgcatcgc | attgtctgag  | 6240 |
| taggtgtcat  | tctattctgg | ggggtgggg  | ggggcaggac | agcaaggggg | aggattggga  | 6300 |
| agacaatagc  | aggcatgctg | gggatgcggt | gggctctatg | gcttctgagg | cggaaagaac  | 6360 |
| cagctggggc  | tctaggggg  | atccccacgc | gccctgtagc | ggcgcatata | gcgcggcggg  | 6420 |
| tgtggtggtt  | acgcgcagcg | tgaccgctac | acttgccagc | gccctagcgc | ccgctccttt  | 6480 |
| cgctttcttc  | ccttcctttc | tcgccacgtt | cgccggcttt | ccccgtcaag | ctctaaatcg  | 6540 |
| ggggctccct  | ttaggggttc | gatttagtgc | tttacggcac | ctcgaccca  | aaaaacttga  | 6600 |
| ttagggtgat  | ggttcacgta | gtgggccatc | gccctgatag | acggtttttc | gccctttgac  | 6660 |
| gttggagtcc  | acgttcttta | atagtggact | cttgttcaa  | actggaacaa | cactcaaccc  | 6720 |
| tatctcggtc  | tattcttttg | atttataagg | gattttgccg | atttcggcct | attggttaaa  | 6780 |
| aatgagctg   | atttaacaaa | aatttaacgc | gaattaattc | tgtggaatgt | gtgtcagtta  | 6840 |
| gggtgtggaa  | agtccccagg | ctccccagca | ggcagaagta | tgcaaagcat | gcattctcaat | 6900 |

|            |            |            |            |            |             |      |
|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------|
| tagtcagcaa | ccaggtgtgg | aaagtcccca | ggctccccag | caggcagaag | tatgcaaagc  | 6960 |
| atgcatctca | attagtcagc | aaccatagtc | ccgcccctaa | ctccgcccct | cccgcctcta  | 7020 |
| actccgcccc | gttccgcccc | ttctccgccc | catggctgac | taattttttt | tatttatgca  | 7080 |
| gaggccgagg | ccgcctctgc | ctctgagcta | ttccagaagt | agtgaggagg | cttttttggg  | 7140 |
| ggcctaggct | tttgcaaaaa | gctcccggga | gcttgtatat | ccatttttcg | atctgatcaa  | 7200 |
| gagacaggat | gaggatcggt | tcgcatgatt | gaacaagatg | gattgcacgc | aggtttctcg  | 7260 |
| gccgcttggg | tggagaggct | attcggctat | gactgggcac | aacagacaat | cggctgctct  | 7320 |
| gatgccgccg | tgttccggct | gtcagcgag  | gggcgcccgg | ttctttttgt | caagaccgac  | 7380 |
| ctgtccggtg | ccctgaatga | actgcaggac | gaggcagcgc | ggctatcggt | gctggccacg  | 7440 |
| acgggcggtc | cttgccgagc | tgtgctcgac | gttgtcactg | aagcgggaag | ggactggctg  | 7500 |
| ctattgggcg | aagtgccggg | gcaggatctc | ctgtcatctc | accttgctcc | tgccgagaaa  | 7560 |
| gtatccatca | tggctgatgc | aatgcggcgg | ctgcatacgc | ttgatccggc | tacctgcccc  | 7620 |
| ttcgaccacc | aagcgaatac | tcgcatcgag | cgagcacgta | ctcggatgga | agccggtctt  | 7680 |
| gtcgatcagg | atgatctgga | cgaagagcat | caggggctcg | cgccagccga | actgttcgcc  | 7740 |
| aggctcaagg | cgcgcatgcc | cgacggcgag | gatctcgtcg | tgacccatgg | cgatgcctgc  | 7800 |
| ttgccgaata | tcattggtga | aaatggccgc | ttttctggat | tcatcgactg | tggccggctg  | 7860 |
| ggtgtggcgg | accgctatca | ggacatagcg | ttggctaccc | gtgatattgc | tgaagagctt  | 7920 |
| ggcggcgaat | gggctgaccg | cttcctcggt | ctttacggta | tcgccgctcc | cgattcgcag  | 7980 |
| cgcatcgctt | tctatcgctt | tcttgacgag | ttcttctgag | cgggactctg | gggttcgaaa  | 8040 |
| tgaccgacca | agcgacgccc | aacctgccat | cacgagattt | cgattccacc | gccgccttct  | 8100 |
| atgaaagggt | gggcttcgga | atcgttttcc | gggacgcccg | ctggatgatc | ctccagcgcg  | 8160 |
| gggatctcat | gctggagttc | ttcgcccacc | ccaacttggt | tattgcagct | tataatgggt  | 8220 |
| acaaataaag | caatagcatc | acaaatttca | caaataaagc | atTTTTTTca | ctgcattcta  | 8280 |
| gttgtgggtt | gtccaaactc | atcaatgtat | cttatcatgt | ctgtataacc | tcgacctcta  | 8340 |
| gctagagctt | ggcgtaatac | tggatcatag | tgtttctctg | gtgaaattgt | tatccgctca  | 8400 |
| caattccaca | caacatacga | gccggaagca | taaagtgtaa | agcctggggg | gcctaattgag | 8460 |
| tgagctaact | cacattaatt | gcgttgcgct | cactgcccgc | tttccagtcg | ggaaacctgt  | 8520 |
| cgtgccagct | gcattaatga | atcgccaac  | gcgcggggag | aggcggtttg | cgtattgggc  | 8580 |
| gctcttccgc | ttcctcgctc | actgactcgc | tgcgctcggt | cgttcggtcg | cggcgagcgg  | 8640 |
| tatcagctca | ctcaaaggcg | gtaatacggg | tatccacaga | atcaggggat | aacgcaggaa  | 8700 |
| agaacatgtg | agcaaaaggc | cagcaaaagg | ccaggaaccg | taaaaaggcc | gcgttgctgg  | 8760 |
| cgtttttcca | taggctccgc | ccccctgacg | agcatcacia | aatcgcacgc | tcaagtccga  | 8820 |

```

ggtagggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcggt tccccctgga agtccctcg 8880
tgcgctctcc tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg 8940
gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct cagttcgggtg taggtcggtc 9000
gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg 9060
gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca 9120
ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg tagggcggtgc tacagagttc ttgaagtggg 9180
ggcctaacta cggctacact agaagaacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag 9240
ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaccacc gctggtagcg 9300
gtttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt 9360
tgatcttttc tacggggctt gacgctcagt ggaacgaaaa ctcacgttaa gggattttgg 9420
tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa tgaagtttta 9480
aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagt 9540
aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat agttgcctga ctccccgctg 9600
ttagataaac tacgatacgg gagggcttac catctggccc cagtgcctga atgataccgc 9660
gagaccacag ctcaccggct ccagatttat cagcaataaa ccagccagcc ggaagggccg 9720
agcgcagaag tggtcctgca actttatccg cctccatcca gtctattaat tgttgccggg 9780
aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa cgttggtgcc attgctacag 9840
gcatcgtggg gtcacgctcg tcgtttggta tggcttcatt cagctccggg tcccaacgat 9900
caaggcgagt tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaaagc ggtagctcc ttcggctctc 9960
cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgcag tggtatcact catgggttatg gcagcactgc 10020
ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa gatgcttttc tgtgactggg gagtactcaa 10080
ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc gaccgagttg ctcttgcccg gcgtcaatac 10140
gggataatac cgcgccacat agcagaactt taaaagtgt catcattgga aaacgttctt 10200
cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc cagttcgatg taaccactc 10260
gtgcacccaa ctgatcttca gcatctttta ctttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa 10320
caggaaggca aaatgccgca aaaaagggaa taagggcgac acggaaatgt tgaatactca 10380
tactcttcct ttttcaatat tattgaagca tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat 10440
acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt tccgcgcaca tttccccgaa 10500
aagtgccacc tgacg 10515

```

<210> 189  
<211> 8777  
<212> ADN

&lt;213&gt; Nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Vectơ pIg-C909-Ckapa

&lt;400&gt; 189

|                                                                    |      |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| tcgacggatc gggagatctc cccatcccct atggtgcact ctcagtacaa tctgctctga  | 60   |
| tgccgcatag ttaagccagt atctgctccc tgcttggtg ttggaggctg ctgagtagtg   | 120  |
| cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggcttgacc gacaattgtt aattaacatg  | 180  |
| aagaatctgc ttaggggttag gcgttttgcg ctgcttcgct aggtggtcaa tattggccat | 240  |
| tagccatatt attcattggt tatatagcat aaatcaatat tggctattgg ccattgcata  | 300  |
| cgttgatatcc atatcataat atgtacattt atattggctc atgtccaaca ttaccgcat  | 360  |
| gttgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata | 420  |
| gcccataatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgct ggctgaccgc  | 480  |
| ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag  | 540  |
| ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac ttggcagtac  | 600  |
| atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggg aaatggcccg  | 660  |
| cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg  | 720  |
| tattagtcac cgctattacc atggtgatgc ggttttgga gtacatcaat gggcgtggat   | 780  |
| agcggtttga ctcacgggga ttccaagtc tccaccccat tgacgtcaat gggagtttgt   | 840  |
| tttggcacca aaatcaacgg gactttccaa aatgtcgtaa caactccgcc ccattgacgc  | 900  |
| aaatgggagg taggcgtgta cgggtggagg tctatataag cagagctcgt ttagtgaacc  | 960  |
| gtcagatcgc ctggagacgc catccacgct gttttgacct ccatagaaga caccgggacc  | 1020 |
| gatccagcct ccgcggccgg gaacggtgca ttggaatcga tgactctctt aggtagcctt  | 1080 |
| gcagaagttg gtcgtgaggc actgggcagg taagtatcaa gggttacaaga caggtttaag | 1140 |
| gagatcaata gaaactgggc ttgtcgagac agagaagact cttgcgtttc tgataggcac  | 1200 |
| ctattggtct tactgacatc cactttgcct ttctctccac aggtgtccac tcccagttca  | 1260 |
| attacagctc gccaccatgc ggctgcccgc ccagctgctg ggccttctca tgctgtgggt  | 1320 |
| gcccgcctcg agatctatcg atgcatgcca tggtagcaag cttgccacca tgagcagcag  | 1380 |
| ctcttggtg ctgctgagcc tgggtggccgt gacagccgcc cagagcacca tcgaggagca  | 1440 |
| ggccaagacc ttcttggaac agttcaacca cgaggccgag gacctgttct accagagcag  | 1500 |
| cctggccagc tggaactaca acaccaacat caccgaggag aacgtgcaga acatgaacaa  | 1560 |
| cgccggcgac aagtggagcg ccttcctgaa ggagcagagc aactggccc agatgtaccc   | 1620 |
| cctgcaggag atccagaacc tgaccgtgaa gctgcagctg caggccctgc agcagaacgg  | 1680 |
| cagcagcgtg ctgagcgagg acaagagcaa gcggctgaac accatcctga acaccatgtc  | 1740 |

|             |            |             |             |             |            |      |
|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|------------|------|
| caccatctac  | agcaccggca | aagtgtgcaa  | ccccgacaac  | ccccaggagt  | gcctgtgtgt | 1800 |
| ggagcccggc  | ctgaacgaga | tcatggccaa  | cagcctggac  | tacaacgagc  | ggctgtgggc | 1860 |
| ctgggagagc  | tggcggagcg | aagtgggcaa  | gcagctgcgg  | cccctgtacg  | aggagtacgt | 1920 |
| ggtgtgaag   | aacgagatgg | ccagggccaa  | ccactacgag  | gactacggcg  | actactggag | 1980 |
| aggcgactac  | gaagtgaacg | gcgtggacgg  | ctacgactac  | agcagaggcc  | agctgatcga | 2040 |
| ggacgtggag  | cacaccttcg | aggagatcaa  | gcctctgtac  | gagcacctgc  | acgcctacgt | 2100 |
| gcgggccaag  | ctgatgaacg | cctaccccag  | ctacatcagc  | cccatcggct  | gcctgcccgc | 2160 |
| ccacctgtctg | ggcgacatgt | ggggccggtt  | ctggaccaac  | ctgtacagcc  | tgaccgtgcc | 2220 |
| cttcggccag  | aagcccaaca | tcgacgtgac  | cgacgccatg  | gtggaccagg  | cctgggacgc | 2280 |
| ccagcggatc  | ttcaaggagg | ccgagaagtt  | cttcgtgagc  | gtgggcctgc  | ccaacatgac | 2340 |
| ccagggcttt  | tgggagaaca | gcatgtctgac | cgaccccgcc  | aatgtgcaga  | aggccgtgtg | 2400 |
| ccacccacc   | gcctgggacc | tgggcaaggg  | cgacttcggg  | atcctgatgt  | gcaccaaagt | 2460 |
| gaccatggac  | gacttcctga | ccgcccacca  | cgagatgggc  | cacatccagt  | acgacatggc | 2520 |
| ctacgccgcc  | cagcccttcc | tgctgcggaa  | cggcgccaac  | gagggctttc  | acgaggccgt | 2580 |
| gggcgagatc  | atgagcctga | gcgccgccac  | ccccaaagcac | ctgaagagca  | tcggcctgct | 2640 |
| gagccccgac  | ttccaggagg | acaacgagac  | cgagatcaac  | ttcctgtctga | agcaggccct | 2700 |
| gaccatcgtg  | ggcaccctgc | ccttcaccta  | catgctggag  | aagtggcggg  | ggatggtggt | 2760 |
| taagggcgag  | atccccaagg | accagtggat  | gaagaagtgg  | tgggagatga  | agcgggagat | 2820 |
| cgtgggcgtg  | gtggagcccc | tgccccacga  | cgagacctac  | tgcgaccccg  | ccagcctggt | 2880 |
| ccacgtgagc  | aacgactact | ccttcatccg  | gtactacacc  | cggaccctgt  | accagttcca | 2940 |
| gttccaggag  | gccctgtgcc | aggccgccaa  | gcacgagggc  | cccctgcaca  | agtgcgacat | 3000 |
| cagcaacagc  | accgaggccg | gacagaaact  | gttcaacatg  | ctgcggctgg  | gcaagagcga | 3060 |
| gccctggacc  | ctggccctgg | agaatgtggt  | gggcgccaa   | aacatgaatg  | tgcgccccct | 3120 |
| gctgaactac  | ttcgagcccc | tgttcacctg  | gctgaaggac  | cagaacaaga  | acagcttcgt | 3180 |
| gggctggagc  | accgactgga | gcccctacgc  | cgaccagagc  | atcaaagtgc  | ggatcagcct | 3240 |
| gaagagcgcc  | ctgggcgaca | aggcctacga  | gtggaacgac  | aacgagatgt  | acctgttccg | 3300 |
| gagcagcgtg  | gcctatgcca | tgcggcagta  | cttcctgaaa  | gtgaagaacc  | agatgatcct | 3360 |
| gttcggcgag  | gaggacgtga | gagtggccaa  | cctgaagccc  | cggatcagct  | tcaacttctt | 3420 |
| cgtgaccgcc  | cccaagaacg | tgagcgacat  | catcccccg   | accgaagtgg  | agaaggccat | 3480 |
| ccggatgagc  | cggagccgga | tcaacgacgc  | cttcgggctg  | aacgacaact  | ccctggagtt | 3540 |
| cctgggcac   | cagcccaccc | tgggccctcc  | caaccagccc  | cccgtgagca  | tctggctgat | 3600 |

|            |             |             |             |             |            |      |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------|
| cgtgtttggc | gtggtgatgg  | gcgtgatcgt  | ggtgggaatc  | gtgatcctga  | tcttcaccgg | 3660 |
| catccgggac | cgaagaaga   | agaacaaggc  | ccggagcggc  | gagaaccctt  | acgccagcat | 3720 |
| cgatatcagc | aagggcgaga  | acaaccccgg  | cttcagaaac  | accgacgacg  | tgcagaccag | 3780 |
| cttctgataa | tctagaacga  | gctcgaattc  | gaagcttctg  | cagacgcgtc  | gacgtcatat | 3840 |
| ggatccgata | tcgccgtggc  | ggccgcaccc  | agcgtgttca  | tcttcccccc  | ctccgacgag | 3900 |
| cagctgaaga | gcggcaccgc  | cagcgtggtg  | tgcttgctga  | acaacttcta  | ccccgggag  | 3960 |
| gccaaggtgc | agtggaaggt  | ggacaacgcc  | ctgcagagcg  | gcaacagcca  | ggagagcgtg | 4020 |
| accgagcagg | acagcaagga  | ctccacctac  | agcctgagca  | gcaccctcac  | cctgagcaag | 4080 |
| gccgactacg | agaagcacia  | ggtgtacgcc  | tgcgaggtga  | cccaccaggg  | cctgagcagc | 4140 |
| cccgtgacca | agagcttcaa  | ccggggcgag  | tgtaataaga  | cttaagttta  | aaccgctgat | 4200 |
| cagcctcgac | tgtgccttct  | agttgccagc  | catctgttgt  | ttgcccctcc  | cccgtgcctt | 4260 |
| ccttgaccct | ggaaggtgcc  | actcccactg  | tcctttccta  | ataaaatgag  | gaaattgcat | 4320 |
| cgcattgtct | gagtaggtgt  | cattctattc  | tggggggtgg  | ggtggggcag  | gacagcaagg | 4380 |
| gggaggattg | ggaagacaat  | agcaggcatg  | ctgggggatgc | ggtgggctct  | atggcttctg | 4440 |
| aggcggaag  | aaccagctgg  | ggctctaggg  | ggtatcccca  | cgcgccctgt  | agcggcgcat | 4500 |
| taagcgcggc | gggtgtggtg  | gttacgcgca  | gcgtgaccgc  | tacacttgcc  | agcgccctag | 4560 |
| cgcccgctcc | tttcgctttc  | ttcccttcct  | ttctcgccac  | gttcgcccgc  | tttccccgtc | 4620 |
| aagctctaaa | tcgggggctc  | cctttagggg  | tccgatttag  | tgctttacgg  | cacctcgacc | 4680 |
| ccaaaaaact | tgattagggg  | gatggttcac  | gtagtggggc  | atcgccctga  | tagacggttt | 4740 |
| ttcgcccttt | gacgttggag  | tccacgttct  | ttaatagtgg  | actcttggtc  | caaactggaa | 4800 |
| caacactcaa | ccctatctcg  | gtctattctt  | ttgatttata  | agggattttg  | gccatttcgg | 4860 |
| cctattgggt | aaaaaatgag  | ctgatttaac  | aaaaatttaa  | cgcgaaattaa | ttctgtggaa | 4920 |
| tgtgtgtcag | ttaggggtgtg | gaaagtcccc  | aggctcccca  | gcaggcagaa  | gtatgcaaag | 4980 |
| catgcatctc | aattagtcag  | caaccagggtg | tggaaagtcc  | ccaggctccc  | cagcaggcag | 5040 |
| aagtatgcaa | agcatgcatc  | tcaattagtc  | agcaaccata  | gtcccgcctc  | taactccgcc | 5100 |
| catcccggcc | ctaactccgc  | ccagttccgc  | ccattctccg  | cccatgggct  | gactaatttt | 5160 |
| ttttatttat | gcagaggccg  | aggccgcctc  | tgctcttgag  | ctattccaga  | agtagtgagg | 5220 |
| aggctttttt | ggaggcctag  | gcttttgcaa  | aaagctcccg  | ggagcttgta  | tatccatttt | 5280 |
| cggatctgat | cagcacgtga  | tgaaaaagcc  | tgaactcacc  | gcgacgtctg  | tcgagaagtt | 5340 |
| tctgatcgaa | aagtctgaca  | gcgtctccga  | cctgatgcag  | ctctcgaggg  | gcgaagaatc | 5400 |
| tcgtgctttc | agcttcgatg  | taggagggcg  | tggatatgtc  | ctgcgggtaa  | atagctgcgc | 5460 |
| cgatggtttc | tacaaagatc  | gttatgttta  | tcggcacttt  | gcacgggccg  | cgctcccgat | 5520 |

|            |            |            |            |            |             |      |
|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------|
| tccggaagtg | cttgacattg | gggaattcag | cgagagcctg | acctattgca | tctcccgcgg  | 5580 |
| tgacacaggt | gtcacgttgc | aagacctgcc | tgaaccgaa  | ctgcccgtg  | ttctgcagcc  | 5640 |
| ggtcgcggag | gccatggatg | cgatcgctgc | ggccgatctt | agccagacga | gcgggttcgg  | 5700 |
| cccattcggg | ccacaaggaa | tcggtcaata | cactacatgg | cgtgatttca | tatgcgcgat  | 5760 |
| tgctgatccc | catgtgtatc | actggcaaac | tgtgatggac | gacaccgtca | gtgcgtccgt  | 5820 |
| cgcgcaggct | ctcgatgagc | tgatgctttg | ggccgaggac | tgccccgaag | tccggcacct  | 5880 |
| cgtgcacgcg | gatttcgggt | ccaacaatgt | cctgacggac | aatggccgca | taacagcggg  | 5940 |
| cattgactgg | agcgaggcga | tgttcgggga | ttccaatac  | gaggtcgcca | acatcttctt  | 6000 |
| ctggaggccg | tggttggtt  | gtatggagca | gcagacgcgc | tacttcgagc | ggaggcatcc  | 6060 |
| ggagcttgca | ggatcgccgc | ggctccgggc | gtatatgctc | cgcatgggtc | ttgaccaact  | 6120 |
| ctatcagagc | ttggttgacg | gcaatttcga | tgatgcagct | tgggcgcagg | gtcgatgcga  | 6180 |
| cgcaatcgtc | cgatccggag | ccgggactgt | cgggcgtaga | caaatcgccc | gcagaagcgc  | 6240 |
| ggccgtcttg | accgatgggt | gtgtagaagt | actcgccgat | agtggaaacc | gacgccccag  | 6300 |
| cactcgtcgg | agggcaaagg | aatagcacgt | gctacgagat | ttcgattcca | ccgccgcctt  | 6360 |
| ctatgaaagg | ttgggcttcg | gaatcgtttt | ccgggacgcc | ggctggatga | tcctccagcg  | 6420 |
| cggggatctc | atgctggagt | tcttcgcca  | ccccacttg  | tttattgcag | cttataatgg  | 6480 |
| ttacaaataa | agcaatagca | tcacaaattt | cacaaataaa | gcattttttt | cactgcattc  | 6540 |
| tagttgtggt | ttgtccaaac | tcacaaatgt | atcttatcat | gtctgtatac | cgtcgacctc  | 6600 |
| tagctagagc | ttggcgtaat | catggtcata | gctgtttcct | gtgtgaaatt | gttatccgct  | 6660 |
| cacaattcca | cacaacatac | gagccggaag | cataaagtgt | aaagcctggg | gtgcctaattg | 6720 |
| agtgcgctaa | ctcacattaa | ttgcgttgcg | ctcactgccc | gctttccagt | cgggaaacct  | 6780 |
| gtcgtgccag | ctgcattaat | gaatcggcc  | acgcgcgggg | agaggcggtt | tgcgatttgg  | 6840 |
| gcgctcttcc | gcttcctcgc | tcactgactc | gctgcgctcg | gtcgttcggc | tcgggcgagc  | 6900 |
| ggatcagct  | cactcaaagg | cggtaatacg | gttatccaca | gaatcagggg | ataacgcagg  | 6960 |
| aaagaacatg | tgagcaaaa  | gccagcaaaa | ggccaggaac | cgtaaaaagg | ccgcgttgct  | 7020 |
| ggcgtttttc | cataggctcc | gccccctga  | cgagcatcac | aaaaatcgac | gctcaagtca  | 7080 |
| gagggtggcg | aacccgacag | gactataaag | ataccaggcg | tttccccctg | gaagctccct  | 7140 |
| cgtgcgctct | cctgttccga | ccctgccgct | taccggatac | ctgtccgcct | ttctcccttc  | 7200 |
| gggaagcgtg | gcgctttctc | atagctcacg | ctgtaggtat | ctcagttcgg | tgtaggtcgt  | 7260 |
| tcgctccaag | ctgggctgtg | tgacgaacc  | ccccgttcag | cccgaccgct | gcgccttatc  | 7320 |
| cggtaactat | cgtcttgagt | ccaaccgggt | aagacacgac | ttatcgccac | tggcagcagc  | 7380 |

cactggtaac aggattagca gagcgaggta tgtaggcggt gctacagagt tcttgaagtg 7440  
 gtggcctaac tacggctaca ctagaagaac agtatttggt atctgcgctc tgctgaagcc 7500  
 agttaccttc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag 7560  
 cggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc 7620  
 tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacggt aagggatttt 7680  
 ggcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt 7740  
 taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag 7800  
 tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct gactccccgt 7860  
 cgtgtagata actacgatac gggagggcct accatctggc cccagtgtg caatgatacc 7920  
 gcgagaccca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc 7980  
 cgagcgcaga agtggtcctg caactttatc cgctccatc cagtctatta attgttgccg 8040  
 ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgcg aacgttggtg ccattgctac 8100  
 aggcacgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg 8160  
 atcaaggcga gttacatgat ccccatgtt gtgcaaaaa gcggttagct cttcgggtcc 8220  
 tccgatcggt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatgggta tggcagcact 8280  
 gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc 8340  
 aaccaagtca ttctgagaat agtgatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat 8400  
 acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc 8460  
 ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac 8520  
 tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa 8580  
 aacaggaagg caaatgccg caaaaaagg aataaggcg acacggaaat gttgaatact 8640  
 catactcttc ctttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg 8700  
 atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca catttccccg 8760  
 aaaagtgcc cctgacg 8777

<210> 190  
 <211> 8792  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> Vector pIg-C910-Clamda

<400> 190  
 tcgacggatc gggagatctc ccgatcccct atgggtgact ctcagtacaa tctgctctga 60  
 tgccgcatag ttaagccagt atctgctccc tgcttggtg ttggagggtc ctgagtagtg 120  
 cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggcttgacc gacaattggt aattaacatg 180

|            |            |            |            |             |            |      |
|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|------|
| aagaatctgc | ttagggtag  | gcgttttgcg | ctgcttcgct | aggtagtcaa  | tattggccat | 240  |
| tagccatatt | attcattggt | tatatagcat | aatcaatat  | tggctattgg  | ccattgcata | 300  |
| cgttgatcc  | atatcataat | atgtacattt | atattggctc | atgtccaaca  | ttaccgccat | 360  |
| gttgacattg | attattgact | agttattaat | agtaatcaat | tacgggggtca | ttagttcata | 420  |
| gcccataat  | ggagttccgc | gttacataac | ttacggtaaa | tggcccgct   | ggctgaccgc | 480  |
| ccaacgaccc | ccgcccattg | acgtcaataa | tgacgtatgt | tcccatagta  | acgccaatag | 540  |
| ggactttcca | ttgacgtcaa | tgggtggagt | atttacggta | aactgcccac  | ttggcagtac | 600  |
| atcaagtgt  | tcatatgcca | agtacgcccc | ctattgacgt | caatgacggt  | aatggccccg | 660  |
| cctggcatta | tgccagtag  | atgaccttat | gggactttcc | tacttggcag  | tacatctacg | 720  |
| tattagtc   | cgctattacc | atggtgatgc | ggttttggca | gtacatcaat  | gggcgtggat | 780  |
| agcggtttga | ctcacgggga | tttccaagtc | tccaccccat | tgacgtcaat  | gggagtttgt | 840  |
| tttggcacca | aatcaacgg  | gactttccaa | aatgtcgtaa | caactccgcc  | ccattgacgc | 900  |
| aatggggcgg | taggcgtgta | cgggtggagg | tctatataag | cagagctcgt  | ttagtgaacc | 960  |
| gtcagatcgc | ctggagacgc | catccacgct | gttttgacct | ccatagaaga  | caccgggacc | 1020 |
| gatccagcct | ccgcggccgg | gaacggtgca | ttggaatcga | tgactctctt  | aggtagcctt | 1080 |
| gcagaagttg | gtcgtgaggc | actgggcagg | taagtatcaa | ggttacaaga  | caggtttaag | 1140 |
| gagatcaata | gaaactgggc | ttgtcgagac | agagaagact | cttgcgtttc  | tgataggcac | 1200 |
| ctattggtct | tactgacatc | cactttgcct | ttctctccac | agggtgccac  | tcccagttca | 1260 |
| attacagctc | gccaccatgc | ggttctccgc | tcagctgctg | ggccttctgg  | tgctgtggat | 1320 |
| tcccggcgtc | tcgagatcta | tcgatgcatg | ccatggtacc | aagcttgcca  | ccatgagcag | 1380 |
| cagctcttgg | ctgctgctga | gcctggtggc | cgtgacagcc | gcccagagca  | ccatcgagga | 1440 |
| gcaggccaag | accttctctg | acaagttcaa | ccacgaggcc | gaggacctgt  | tctaccagag | 1500 |
| cagcctggcc | agctggaact | acaacaccaa | catcaccgag | gagaacgtgc  | agaacatgaa | 1560 |
| caacgccggc | gacaagtgga | gcgccttcct | gaaggagcag | agcacactgg  | cccagatgta | 1620 |
| ccccctgcag | gagatccaga | acctgaccgt | gaagctgcag | ctgcaggccc  | tgacagagaa | 1680 |
| cggcagcagc | gtgctgagcg | aggacaagag | caagcggctg | aacaccatcc  | tgaacaccat | 1740 |
| gtccaccatc | tacagcaccg | gcaaagtgtg | caaccccgac | aacccccagg  | agtgcctgct | 1800 |
| gctggagccc | ggcctgaacg | agatcatggc | caacagcctg | gactacaacg  | agcggctgtg | 1860 |
| ggcctgggag | agctggcgga | gcgaagtggg | caagcagctg | cggccccctgt | acgaggagta | 1920 |
| cgtggtgctg | aagaacgaga | tggccagggc | caaccactac | gaggactacg  | gcgactactg | 1980 |
| gagaggcgac | tacgaagtga | acggcgtgga | cggctacgac | tacagcagag  | gccagctgat | 2040 |

|            |            |            |            |            |            |      |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------|
| cgaggacgtg | gagcacacct | tcgaggagat | caagcctctg | tacgagcacc | tgcacgccta | 2100 |
| cgtgcggggc | aagctgatga | acgcctaccc | cagctacatc | agcccatcg  | gctgcctgcc | 2160 |
| cgccacctg  | ctgggcgaca | tgtggggccg | gttctggacc | aacctgtaca | gcctgaccgt | 2220 |
| gcccttcggc | cagaagccca | acatcgacgt | gaccgacgcc | atggtggacc | aggcctggga | 2280 |
| cgccagcgg  | atcttcaagg | aggccgagaa | gttcttcgtg | agcgtgggcc | tgcccaacat | 2340 |
| gaccagggc  | ttttgggaga | acagcatgct | gaccgacccc | ggcaatgtgc | agaaggccgt | 2400 |
| gtgccacccc | accgcctggg | acctgggcaa | gggcgacttc | cggatcctga | tgtgcaccaa | 2460 |
| agtgaccatg | gacgacttcc | tgaccgccc  | ccacgagatg | ggccacatcc | agtacgacat | 2520 |
| ggcctacgcc | gccagccct  | tcctgctgcg | gaacggcgcc | aacgagggt  | ttcacgaggc | 2580 |
| cgtgggcgag | atcatgagcc | tgagcgccgc | caccccaag  | cacctgaaga | gcatcggcct | 2640 |
| gctgagcccc | gacttccagg | aggacaacga | gaccgagatc | aacttcctgc | tgaagcaggc | 2700 |
| cctgaccatc | gtgggcaccc | tgcccttcac | ctacatgctg | gagaagtggc | ggtggatggt | 2760 |
| gtttaagggc | gagatcccca | aggaccagtg | gatgaagaag | tggtgggaga | tgaagcggga | 2820 |
| gatcgtgggc | gtggtggagc | ccgtgcccc  | cgacgagacc | tactgcgacc | ccgccagcct | 2880 |
| gttccacgtg | agcaacgact | actccttcat | ccggtactac | acccggaccc | tgtaccagtt | 2940 |
| ccagttccag | gaggccctgt | gccaggccgc | caagcacgag | ggccccctgc | acaagtgcga | 3000 |
| catcagcaac | agcaccgagg | ccggacagaa | actgttcaac | atgctgcggc | tgggcaagag | 3060 |
| cgagccctgg | accctggccc | tggagaatgt | ggtgggcgcc | aagaacatga | atgtgcgccc | 3120 |
| cctgctgaac | tacttcgagc | ccctgttcac | ctggctgaag | gaccagaaca | agaacagctt | 3180 |
| cgtgggctgg | agcaccgact | ggagccccta | cgccgaccag | agcatcaaag | tgcggatcag | 3240 |
| cctgaagagc | gccctgggcg | acaaggccta | cgagtggaac | gacaacgaga | tgtacctgtt | 3300 |
| ccggagcagc | gtggcctatg | ccatgcggca | gtacttcctg | aaagtgaaga | accagatgat | 3360 |
| cctgttcggc | gaggaggacg | tgagagtggc | caacctgaag | ccccggatca | gcttcaactt | 3420 |
| cttcgtgacc | gcccccaaga | acgtgagcga | catcatcccc | cggaccgaag | tggagaaggc | 3480 |
| catccggatg | agccggagcc | ggatcaacga | cgccttcgg  | ctgaacgaca | actccctgga | 3540 |
| gttcctgggc | atccagccca | ccctgggccc | tccaaccag  | cccccgatga | gcatctggct | 3600 |
| gatcgtgttt | ggcgtggtga | tgggcgtgat | cgtggtggga | atcgtgatcc | tgatcttcac | 3660 |
| cggcatccgg | gaccggaaga | agaagaacaa | ggcccggagc | ggcgagaacc | cctacgccag | 3720 |
| catcgatatc | agcaagggcg | agaacaaccc | cggcttcag  | aacaccgacg | acgtgcagac | 3780 |
| cagcttctga | taatctagaa | cgagctcgaa | ttcgaagctt | ctgcagacgc | gtcgacgtca | 3840 |
| tatggatccg | atatcgccgt | ggcggccgca | ggccagccca | aggccgctcc | cagcgtgacc | 3900 |
| ctgttcccc  | cctcctccga | ggagctgcag | gccaacaagg | ccaccctggt | gtgcctcatc | 3960 |

|             |             |             |             |             |            |      |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------|
| agcgacttct  | accctggcgc  | cgtgaccgtg  | gcctggaagg  | ccgacagcag  | ccccgtgaag | 4020 |
| gccggcgtgg  | agaccaccac  | ccccagcaag  | cagagcaaca  | acaagtacgc  | cgccagcagc | 4080 |
| tacctgagcc  | tcacccccga  | gcagtggaag  | agccaccgga  | gctacagctg  | ccaggtgacc | 4140 |
| cacgagggca  | gcaccgtgga  | gaagaccgtg  | gccccaccg   | agtgcagcta  | atagacttaa | 4200 |
| gtttaaacccg | ctgatcagcc  | tcgactgtgc  | cttctagtgtg | ccagccatct  | gttgtttgcc | 4260 |
| cctcccccg   | gccttccttg  | accctggaag  | gtgccactcc  | cactgtcctt  | tcctaataaa | 4320 |
| atgaggaaat  | tgcatcgcat  | tgtctgagta  | gggtgcattc  | tattctgggg  | gggtggggtg | 4380 |
| ggcaggacag  | caagggggag  | gattgggaag  | acaatagcag  | gcatgctggg  | gatgcggtg  | 4440 |
| gctctatggc  | ttctgaggcg  | gaaagaacca  | gctggggctc  | taggggggtat | ccccacgcgc | 4500 |
| cctgtagcgg  | cgcattaagc  | gcggcggtg   | tggtggttac  | gcgcagcgtg  | accgctacac | 4560 |
| ttgccagcgc  | cctagcgccc  | gctcctttcg  | ctttcttccc  | ttcctttctc  | gccacgttcg | 4620 |
| ccggcctttcc | ccgtcaagct  | ctaaatcggg  | ggctcccctt  | agggttccga  | tttagtgctt | 4680 |
| tacggcacct  | cgaccccaaa  | aaacttgatt  | aggggtgatg  | ttcacgtagt  | gggccatcgc | 4740 |
| cctgatagac  | ggtttttcgc  | cctttgacgt  | tggagtccac  | gttctttaat  | agtggactct | 4800 |
| tgttccaaac  | tggaacaaca  | ctcaacccta  | tctcggctta  | ttcttttgat  | ttataaggga | 4860 |
| ttttggccat  | ttcggcctat  | tggttaaaaa  | atgagctgat  | ttaacaaaaa  | tttaacgcga | 4920 |
| attaattctg  | tggaatgtgt  | gtcagttagg  | gtgtggaaag  | tccccaggct  | ccccagcagg | 4980 |
| cagaagtatg  | caaagcatgc  | atctcaatta  | gtcagcaacc  | aggtgtggaa  | agtccccagg | 5040 |
| ctccccagca  | ggcagaagta  | tgcaaagcat  | gcatctcaat  | tagtcagcaa  | ccatagtccc | 5100 |
| gcccctaact  | ccgcccattc  | cggccctaac  | tccgcccagt  | tccgcccatt  | ctccgcccc  | 5160 |
| tggctgacta  | atTTTTTTT   | tttatgcaga  | ggccgaggcc  | gcctctgcct  | ctgagctatt | 5220 |
| ccagaagtag  | tgaggaggct  | tttttgagg   | cctaggcttt  | tgcaaaaagc  | tcccgggagc | 5280 |
| ttgtatatcc  | atTTTtcggat | ctgatcagca  | cgtgatgaaa  | aagcctgaac  | tcaccgcgac | 5340 |
| gtctgtcgag  | aagtttctga  | tcgaaaagtt  | cgacagcgtc  | tccgacctga  | tgcagctctc | 5400 |
| ggagggcgaa  | gaatctcgtg  | ctttcagctt  | cgatgtagga  | gggcgtggat  | atgtcctgcg | 5460 |
| ggtaaatagc  | tgcgccgatg  | gtttctacaa  | agatcgttat  | gtttatcggc  | actttgcata | 5520 |
| ggccgcgctc  | ccgattccgg  | aagtgcctga  | cattggggaa  | ttcagcgaga  | gcctgacct  | 5580 |
| ttgcatctcc  | cgccgtgcac  | aggggtgtcac | gttgcaagac  | ctgcctgaaa  | ccgaactgcc | 5640 |
| cgctgttctg  | cagccggtcg  | cggaggccat  | ggatgcgac   | gctgcggccg  | atcttagcca | 5700 |
| gacgagcggg  | ttcggcccat  | tcggaccgca  | aggaatcgg   | caatacacta  | catggcgtga | 5760 |
| tttcatatgc  | gcgattgctg  | atccccatgt  | gtatcactgg  | caaactgtga  | tggacgacac | 5820 |

|             |             |            |            |            |            |      |
|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------|
| cgtcagtgcg  | tccgtcgcgc  | aggctctcga | tgagctgatg | ctttgggccg | aggactgccc | 5880 |
| cgaagtccgg  | cacctcgtgc  | acgcggatth | cggtccaac  | aatgtcctga | cggacaatgg | 5940 |
| ccgcataaca  | gcggtcattg  | actggagcga | ggcgatgttc | ggggattccc | aatacgaggt | 6000 |
| cgccaacatc  | ttcttctgga  | ggccgtgggt | ggcttgatg  | gagcagcaga | cgcgctactt | 6060 |
| cgagcggagg  | catccggagc  | ttgcaggatc | gccgcggctc | cgggcgtata | tgctccgcat | 6120 |
| tggtcttgac  | caactctatc  | agagcttggg | tgacggcaat | ttcgatgatg | cagcttgggc | 6180 |
| gcagggtcga  | tgcgacgcaa  | tcgtccgatc | cggagccggg | actgtcgggc | gtacacaaat | 6240 |
| cgcccgaga   | agcgcggccg  | tctggaccga | tggtgtgtga | gaagtactcg | ccgatagtgg | 6300 |
| aaaccgacgc  | cccagcactc  | gtccgagggc | aaaggaatag | cacgtgctac | gagatttcga | 6360 |
| ttccaccgcc  | gccttctatg  | aaaggttggg | cttcggaatc | gttttccggg | acgccggctg | 6420 |
| gatgatcctc  | cagcgcgggg  | atctcatgct | ggagttcttc | gcccacccca | acttgtttat | 6480 |
| tgacgcttat  | aatgggttaca | aataaagcaa | tagcatcaca | aatttcacaa | ataaagcatt | 6540 |
| tttttcaactg | cattctagtt  | gtggtttgtc | caaactcatc | aatgtatctt | atcatgtctg | 6600 |
| tataccgtcg  | acctctagct  | agagcttggc | gtaatcatgg | tcatactgtg | ttcctgtgtg | 6660 |
| aaattgttat  | ccgctcacia  | ttccacacia | catacgagcc | ggaagcataa | agtgtaaagc | 6720 |
| ctggggtgcc  | taatgagtga  | gctaactcac | attaattgcy | ttgcgctcac | tgcccgcctt | 6780 |
| ccagtcggga  | aacctgtcgt  | gccagctgca | ttaatgaatc | ggccaacgcg | cggggagagg | 6840 |
| cggtttgctg  | attgggcgct  | cttcgccttc | ctcgtcact  | gactcgtgc  | gctcggctgt | 6900 |
| tcggctgcgg  | cgagcggtat  | cagctcactc | aaaggcggta | atacggttat | ccacagaatc | 6960 |
| aggggataac  | gcaggaaaga  | acatgtgagc | aaaaggccag | caaaaggcca | ggaaccgtaa | 7020 |
| aaaggccgcg  | ttgctggcgt  | ttttccatag | gctccgcccc | cctgacgagc | atcacaaaaa | 7080 |
| tcgacgctca  | agtcagaggt  | ggcgaaaccc | gacaggacta | taaagatacc | aggcgtttcc | 7140 |
| ccctggaagc  | tcctcgtgc   | gctctcctgt | tcgaccctg  | ccgcttaccg | gatacctgtc | 7200 |
| cgcctttctc  | ccttcgggaa  | gcgtggcgct | ttctcatagc | tcacgctgta | ggtatctcag | 7260 |
| ttcgggtgtag | gtcgttcgct  | ccaagctggg | ctgtgtgcac | gaaccccccg | ttcagcccga | 7320 |
| ccgctgcgcc  | ttatccggta  | actatcgtct | tgagtccaac | ccggtaaagc | acgacttatc | 7380 |
| gccactggca  | gcagccactg  | gtaacaggat | tagcagagcg | aggtatgtag | gcggtgctac | 7440 |
| agagttcttg  | aagtgggtggc | ctaactacgg | ctacactaga | agaacagtat | ttggtatctg | 7500 |
| cgtctgtctg  | aagccagtta  | ccttcggaaa | aagagttggg | agctcttgat | ccggcaaaaa | 7560 |
| aaccaccgct  | ggtagcgggt  | tttttgtttg | caagcagcag | attacgcgca | gaaaaaaagg | 7620 |
| atctcaagaa  | gatcctttga  | tcttttctac | ggggtctgac | gctcagtggg | acgaaaactc | 7680 |
| acgttaaggg  | attttgggtca | tgagattatc | aaaaaggatc | ttcacctaga | tccttttaaa | 7740 |

```

ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag taaacttggt ctgacagtta 7800
ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt 7860
tgcctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag ggcttaccat ctggccccag 7920
tgctgcaatg ataccgagag acccacgctc accgggtcca gatttatcag caataaacca 7980
gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcctgcaact ttatccgcct ccatccagtc 8040
tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt 8100
tgttgccatt gctacaggca tcgtgggtgc acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag 8160
ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc atgttgtgca aaaaagcgggt 8220
tagctccttc ggtcctccga tcgttgtcag aagtaagttg gccgcagtgt tatcactcat 8280
ggttatggca gactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt 8340
gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc 8400
ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgtcat 8460
cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag 8520
ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt 8580
ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg 8640
gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta 8700
ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc 8760
gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cg 8792

```

```

<210> 191
<211> 23
<212> ADN
<213> Nhân tạo

```

```

<220>
<223> OK1 (HuVK1B)

```

```

<400> 191
gacatccagw tgacccagtc tcc 23

```

```

<210> 192
<211> 23
<212> ADN
<213> Nhân tạo

```

```

<220>
<223> OK2 (HuVK2)

```

```

<400> 192
gatgttgatg tgactcagtc tcc 23

```

```

<210> 193

```

<211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OK3 (HuVK2B2)

<400> 193  
 gatattgtga tgacccagac tcc

23

<210> 194  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OK4 (HuVK3B)

<400> 194  
 gaaattgtgw tgacrcagtc tcc

23

<210> 195  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OK5 (HuVK5)

<400> 195  
 gaaacgacac tcacgcagtc tcc

23

<210> 196  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OK6 (HuVK6)

<400> 196  
 gaaattgtgc tgactcagtc tcc

23

<210> 197  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OCK (HuCK)

<400> 197  
 acactctccc ctgttgaagc tctt

24

<210> 198  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OL1 (HuVL1A)\*  
  
 <400> 198  
 cagtctgtgc tgactcagcc acc 23  
  
 <210> 199  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OL1 (HuVL1B)\*  
  
 <400> 199  
 cagtctgtgy tgacgcagcc gcc 23  
  
 <210> 200  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OL1 (HuVL1C)\*  
  
 <400> 200  
 cagtctgtcg tgacgcagcc gcc 23  
  
 <210> 201  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OL2 (HuVL2B)  
  
 <400> 201  
 cagtctgccc tgactcagcc 20  
  
 <210> 202  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OL3 (HuVL3A)  
  
 <400> 202  
 tcctatgwgcc tgactcagcc acc 23  
  
 <210> 203  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OL4 (HuVL3B)

|                                                      |    |
|------------------------------------------------------|----|
| <400> 203<br>tcttctgagc tgactcagga ccc               | 23 |
| <210> 204<br><211> 20<br><212> ADN<br><213> Nhân tạo |    |
| <220><br><223> OL5 (HuVL4B)                          |    |
| <400> 204<br>cagcytgtgc tgactcaatc                   | 20 |
| <210> 205<br><211> 23<br><212> ADN<br><213> Nhân tạo |    |
| <220><br><223> OL6 (HuVL5)                           |    |
| <400> 205<br>caggctgtgc tgactcagcc gtc               | 23 |
| <210> 206<br><211> 23<br><212> ADN<br><213> Nhân tạo |    |
| <220><br><223> OL7 (HuVL6)                           |    |
| <400> 206<br>aatattatgc tgactcagcc cca               | 23 |
| <210> 207<br><211> 23<br><212> ADN<br><213> Nhân tạo |    |
| <220><br><223> OL8 (HuVL7/8)                         |    |
| <400> 207<br>cwgccctgtgc tgactcagcc mcc              | 23 |
| <210> 208<br><211> 23<br><212> ADN<br><213> Nhân tạo |    |
| <220><br><223> OL9 (HuVL9)#                          |    |
| <400> 208<br>cwgccctgtgc tgactcagcc mcc              | 23 |

<210> 209  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OL9 (HuVL10)#  
  
 <400> 209  
 caggcagggc tgactcag 18  
  
 <210> 210  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OCL (HuCL2)X  
  
 <400> 210  
 tgaacattct gtaggggcca ctg 23  
  
 <210> 211  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OCL (HuCL7)X  
  
 <400> 211  
 agagcattct gcaggggcca ctg 23  
  
 <210> 212  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OH1(HuVH1B7A)+  
  
 <400> 212  
 cagrtgcagc tgggtgcartc tgg 23  
  
 <210> 213  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OH1 (HuVH1C)+  
  
 <400> 213  
 saggtccagc tggtrcagtc tgg 23  
  
 <210> 214

<211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OH2 (HuVH2B)  
  
 <400> 214  
 cagrtcacct tgaaggagtc tgg 23  
  
 <210> 215  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OH3 (HuVH3A)  
  
 <400> 215  
 gaggtgcagc tgggtggag 18  
  
 <210> 216  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OH4 (HuVH3C)  
  
 <400> 216  
 gaggtgcagc tgggtggagwc ygg 23  
  
 <210> 217  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OH5 (HuVH4B)  
  
 <400> 217  
 caggtgcagc tacagcagtg ggg 23  
  
 <210> 218  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OH6 (HuVH4C)  
  
 <400> 218  
 cagstgcagc tgcaggagtc sgg 23  
  
 <210> 219  
 <211> 23  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OH7 (HuVH6A)  
 <400> 219  
 caggtacagc tgcagcagtc agg 23

<210> 220  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
 <220>  
 <223> OCM (HuCIgM)  
 <400> 220  
 tggaagaggc acgttctttt cttt 24

<210> 221  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
 <220>  
 <223> OK1S (HuVK1B-SAL)  
 <400> 221  
 tgagcacaca ggctcgacgga catccagwtg acccagtctc c 41

<210> 222  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
 <220>  
 <223> OK2S (HuVK2-SAL)  
 <400> 222  
 tgagcacaca ggctcgacgga tgttgatgatg actcagtctc c 41

<210> 223  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
 <220>  
 <223> OK3S (HuVK2B2-SAL)  
 <400> 223  
 tgagcacaca ggctcgacgga tattgtgatg acccagactc c 41

<210> 224  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
 <220>  
 <223> OK4S (HuVK3B-SAL)

<400> 224  
 tgagcacaca ggtcgacgga aattgtgwtg acrcagtctc c 41

<210> 225  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OK5S (HuVK5-SAL)

<400> 225  
 tgagcacaca ggtcgacgga aacgacactc acgagtctc c 41

<210> 226  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OK6S (HuVK6-SAL)

<400> 226  
 tgagcacaca ggtcgacgga aattgtgctg actcagtctc c 41

<210> 227  
 <211> 48  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OJK1 (HuJK1-NOT)

<400> 227  
 gagtcattct cgacttgcg g cgcacgttt gatttccacc ttggtccc 48

<210> 228  
 <211> 48  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OJK2 (HuJK2-NOT)

<400> 228  
 gagtcattct cgacttgcg g cgcacgttt gatctccagc ttggtccc 48

<210> 229  
 <211> 48  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OJK3 (HuJK3-NOT)

<400> 229  
 gagtcattct cgacttgcg g cgcacgttt gatattccact ttggtccc 48

<210> 230  
 <211> 48  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OJK4 (HuJK4-NOT)

<400> 230  
 gagtcattct cgacttgagg ccgcacgttt gatctccacc ttggtccc 48

<210> 231  
 <211> 48  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OJK5 (HuJK5-NOT)

<400> 231  
 gagtcattct cgacttgagg ccgcacgttt aatctccagt cgtgtccc 48

<210> 232  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OL1S (HuVL1A-SAL)\*

<400> 232  
 tgagcacaca ggtagcagca gtctgtgctg actcagccac c 41

<210> 233  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OL1S (HuVL1B-SAL)\*

<400> 233  
 tgagcacaca ggtagcagca gtctgtgctg acgcagccgc c 41

<210> 234  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OL1S (HuVL1C-SAL)\*

<400> 234  
 tgagcacaca ggtagcagca gtctgtcgtg acgcagccgc c 41

<210> 235

<211> 38  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
 <220>  
 <223> OL2S (HuVL2B-SAL)  
 <400> 235  
 tgagcacaca ggtcgacgca gtctgccctg actcagcc 38

<210> 236  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
 <220>  
 <223> OL3S (HuVL3A-SAL)  
 <400> 236  
 tgagcacaca ggtcgacgtc ctatgwgctg actcagccac c 41

<210> 237  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
 <220>  
 <223> OL4S (HuVL3B-SAL)  
 <400> 237  
 tgagcacaca ggtcgacgtc ttctgagctg actcaggacc c 41

<210> 238  
 <211> 38  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
 <220>  
 <223> OL5S (HuVL4B-SAL)  
 <400> 238  
 tgagcacaca ggtcgacgca gcytgtgctg actcaatc 38

<210> 239  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
 <220>  
 <223> OL6S (HuVL5-SAL)  
 <400> 239  
 tgagcacaca ggtcgacgca ggctgtgctg actcagccgt c 41

<210> 240  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OL7S (HuVL6-SAL)  
  
 <400> 240  
 tgagcacaca ggtcgacgaa ttttatgctg actcagcccc a 41  
  
 <210> 241  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OL8S (HuVL7/8-SAL)  
  
 <400> 241  
 tgagcacaca ggtcgacgca grctgtggtg acycaggagc c 41  
  
 <210> 242  
 <211> 41  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OL9S (HuVL9-SAL)#  
  
 <400> 242  
 tgagcacaca ggtcgacgcw gcctgtgctg actcagccmc c 41  
  
 <210> 243  
 <211> 36  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OL9S (HuVL10-SAL)#  
  
 <400> 243  
 tgagcacaca ggtcgacgca ggcagggctg actcag 36  
  
 <210> 244  
 <211> 48  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OJL1 (HuJL1-NOT)  
  
 <400> 244  
 gagtcattct cgacttgctg cgcacctag gacggtgacc ttggtccc 48  
  
 <210> 245  
 <211> 48  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OJL2 (HuJL2/3-NOT)

<400> 245  
 gagtcattct cgacttgcg cgcacctag gacggtcagc ttggtccc 48

<210> 246  
 <211> 48  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OJL3 (HuJL7-NOT)

<400> 246  
 gagtcattct cgacttgcg cgcaccgag gacggtcagc tgggtgcc 48

<210> 247  
 <211> 56  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OH1S (HuVH1B-SFI)+

<400> 247  
 gtcctcgcaa ctgcgggcca gccggccatg gcccagrtgc agctgggtgca rtctgg 56

<210> 248  
 <211> 56  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OH1S (HuVH1C-SFI)+

<400> 248  
 gtcctcgcaa ctgcgggcca gccggccatg gccsaggtcc agctggtrca gtctgg 56

<210> 249  
 <211> 56  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OH2S (HuVH2B-SFI)

<400> 249  
 gtcctcgcaa ctgcgggcca gccggccatg gcccagrtca ccttgaagga gtctgg 56

<210> 250  
 <211> 51  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OH3S (HuVH3A-SFI)

<400> 250  
 gtcctcgcaa ctgcgggcca gccggccatg gccgaggtgc agctgggtgga g 51

<210> 251  
 <211> 56  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OH4S (HuVH3C-SFI)  
  
 <400> 251  
 gtcctcgcaa ctgcggccca gccggccatg gccgaggtgc agctggtgga gwcyyg 56  
  
 <210> 252  
 <211> 56  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OH5S (HuVH4B-SFI)  
  
 <400> 252  
 gtcctcgcaa ctgcggccca gccggccatg gccaggtgc agctacagca gtgggg 56  
  
 <210> 253  
 <211> 56  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OH6S (HuVH4C-SFI)  
  
 <400> 253  
 gtcctcgcaa ctgcggccca gccggccatg gccagstgc agctgcagga gtcsgg 56  
  
 <210> 254  
 <211> 56  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OH7S (HuVH6A-SFI)  
  
 <400> 254  
 gtcctcgcaa ctgcggccca gccggccatg gccaggtac agctgcagca gtcagg 56  
  
 <210> 255  
 <211> 36  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> OJH1 (HuJH1/2-XHO)  
  
 <400> 255  
 gagtcattct cgactcgaga crgtgaccag ggtgcc 36  
  
 <210> 256

<211> 36  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OJH2 (HuJH3-XHO)

<400> 256  
 gagtcattct cgactcgaga cggtgaccat tgtccc 36

<210> 257  
 <211> 36  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OJH3 (HuJH4/5-XHO)

<400> 257  
 gagtcattct cgactcgaga cggtgaccag ggtccc 36

<210> 258  
 <211> 36  
 <212> ADN  
 <213> Nhân tạo

<220>  
 <223> OJH4 (HuJH6-XHO)

<400> 258  
 gagtcattct cgactcgaga cggtgaccgt ggtccc 36