



(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)



1-0026345

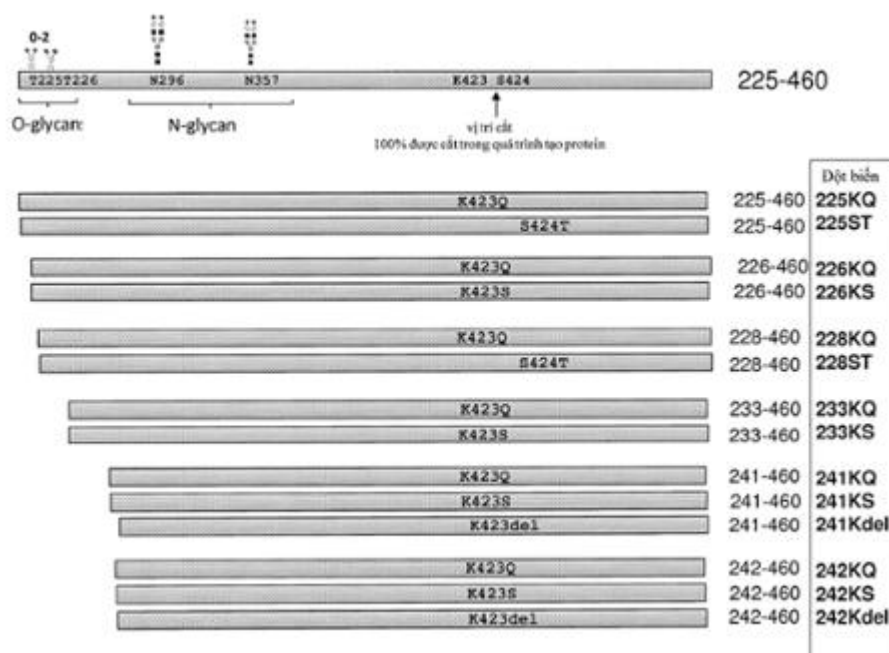
(51)⁷ A61K 38/18; C07K 14/475

(13) B

(21) 1-2015-03605 (22) 07/03/2014
(86) PCT/US2014/022102 07/03/2014 (87) WO 2014/138687 12/09/2014
(30) 61/775,400 08/03/2013 US; 61/938,123 10/02/2014 US
(45) 25/11/2020 392 (43) 25/01/2016 334A
(73) NOVARTIS AG (CH)
Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel, Switzerland
(72) JOHNSON, Kristen (US); SHI, Jian (US).
(74) Công ty TNHH Ban Ca (BANCA)

(54) POLYPEPTIT PHÂN LẬP ĐƯỢC, DƯỢC PHẨM CHỨA POLYPEPTIT NÀY
DÙNG ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH VIÊM KHỚP

(57) Sáng chế đề xuất polypeptit kháng proteaza cũng như dược phẩm chứa polypeptit này
và mô tả phương pháp cảm ứng sự biệt hóa tế bào gốc trung mô thành tế bào sụn.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến polypeptit phân lập được và được phẩm chứa polypeptit này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Viêm xương khớp (OA) đại diện cho rối loạn cơ xương phổ biến nhất. Xấp xỉ 40 triệu người Mỹ đang mắc phải; một con số đã được dự báo là tăng đến 60 triệu trong vòng hai mươi năm tới là kết quả của sự già hóa dân số và sự tăng tuổi thọ, khiến cho bệnh này là nguyên nhân đứng thứ tư gây ra sự tàn phế. OA được đặc trưng bởi sự thoái hóa từ từ của khớp bao gồm cả sụn khớp (gồm tế bào và chất nền tạo ra sự bôi trơn và sự đệm cho khớp) và xương dưới sụn ở dưới sụn khớp. OA có thể được coi là hậu quả của nhiều yếu tố gây bệnh khác nhau. Ví dụ, có thể do căng thẳng cơ sinh học bất thường hoặc sự bất thường di truyền hoặc mắc phải của sụn khớp hoặc xương. Các liệu pháp điều trị OA hiện nay bao gồm sự giảm đau bằng NSAID dùng qua đường miệng hoặc chất ức chế cyclooxygenase 2 (COX-2) chọn lọc, tiêm trong khớp (IA) bằng các chất chẳng hạn như corticosteroid và hyaluronan và phương pháp phẫu thuật.

Tổn thương khớp, ví dụ, chấn thương khớp cấp tính, chẳng hạn như rách sụn chêm hoặc dây chằng, hoặc gãy xương trong khớp cũng có thể dẫn đến viêm khớp, ví dụ, viêm khớp sau chấn thương. Bởi vì sụn khớp có khả năng hạn chế đối với việc sửa chữa, nên thậm chí một tổn thương nhỏ không phát hiện được đôi khi có thể trở nên tồi tệ hơn theo thời gian và dẫn đến OA. Các phương pháp điều trị hiện nay đối với chấn thương khớp có thể bao gồm phẫu thuật và các quy trình xâm lấn khác tập trung vào sự tái tạo khớp bị tổn thương cũng như điều trị bằng các chất để làm giảm đau và giảm viêm.

Tế bào gốc trung mô (MSCs) có ở sụn khớp ở người trưởng thành và khi phân lập được có thể được lập trình in vitro để trải qua sự biệt hóa thành tế bào sụn và các dòng tế bào trung mô khác và có thể được sử dụng để tái tạo sụn. Một phần, quy trình này được điều hòa bằng các yếu tố tăng trưởng (TGF β s, BMPs), tình trạng huyết thanh và sự tiếp xúc tế bào – tế bào. Công bố đơn quốc tế số WO2011/008773 mô tả chế

phẩm peptit và việc sử dụng chế phẩm này để điều trị hoặc phòng ngừa viêm khớp và chấn thương khớp và để cảm ứng sự biệt hóa tế bào trung mô thành tế bào sụn. Ngoài ra, công bố đơn quốc tế số WO2012/129562 mô tả hợp chất phân tử nhỏ, chế phẩm và việc sử dụng các chế phẩm này để cải thiện viêm khớp và chấn thương khớp và để cảm ứng sự biệt hóa tế bào trung mô thành tế bào sụn.

Mặc dù các phương pháp phẫu thuật và công nghệ tái tạo đã tạo ra một số tiến bộ trong sự phục hồi sụn, sự làm chậm thoái hóa và trong việc sửa chữa đã được cải thiện về tổn thương khớp, nhu cầu liên tục tồn tại đối với sự cải tiến chế phẩm và phương pháp đối với sụn tái tạo sụn có hiệu quả, cải tiến sự điều trị tổn thương khớp và sự cải thiện hoặc phòng ngừa OA.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề cập đến polypeptit phân lập được của polypeptit giống angiopoietin- 3 (ANGPTL3) được cải thiện đặc tính dược lý, ví dụ, ổn định hơn, ít miễn cảm hơn đối với sự phân giải protein và sự thoái biến bằng enzym hơn so với ANGPTL3 kiểu dại. Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa polypeptit này.

Do đó, sáng chế đề xuất polypeptit kháng proteaza chứa trình tự axit amin có ít nhất 95% sự tương đồng về trình tự axit amin, với trình tự axit amin được chọn từ một hoặc nhiều trình tự trong số các trình tự ở bảng 1, trong đó polypeptit này bao gồm axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến trình tự polypeptit ANGPTL3 có chiều dài đầy đủ, SEQ ID NO:1. Theo một số phương án, axit amin ở vị trí 423 như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 là Q hoặc S. Theo các phương án nhất định, axit amin ở vị trí 423 như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 là Q. Theo các phương án nhất định, axit amin ở vị trí 423 như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 là S. Theo các phương án nhất định, axit amin ở vị trí 423 như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 bị loại bỏ. Ngoài ra, polypeptit được đề xuất có hoạt tính tạo sụn.

Theo một số phương án, polypeptit được đề xuất này chứa trình tự có độ tương đồng ít nhất là 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40,

SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, hoặc SEQ ID NO:70. Theo một số phương án, polypeptit này chứa trình tự có độ tương đồng ít nhất là 95% với trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, hoặc SEQ ID NO:64. Theo một số phương án, polypeptit này chứa trình tự bất kỳ trong số các trình tự ở bảng 1. Theo một số phương án, polypeptit này chứa trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, hoặc SEQ ID NO:70. Theo một số phương án, polypeptit này chứa trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, hoặc SEQ ID NO:64. Theo một số phương án, polypeptit này là trình tự bất kỳ trong số các trình tự ở bảng 1. Theo một số phương án, polypeptit này là trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, hoặc SEQ ID NO:70. Theo một số phương án, polypeptit này là trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, hoặc SEQ ID NO:64.

Polypeptit theo sáng chế có thể được PEGyl hóa. Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế có thể bao gồm peptit khác loại dưới dạng protein dung hợp,

mà tùy ý có thể được dung hợp tại đầu amino hoặc đầu carboxy của polypeptit này, trong đó polypeptit này được dung hợp với bất kỳ loại nào trong số albumin huyết thanh của người (HSA), vùng cố định trên chuỗi nặng của globulin miễn dịch (Fc), polyhistidin, glutathion S transferaza (GST), thioredoxin, protein A, protein G, hoặc protein gắn kết maltoza (MBP), hoặc mảnh của nó. Sáng chế cũng đề xuất polynucleotit mã hóa polypeptit theo sáng chế; vector chứa polynucleotit mã hóa polypeptit này; và tế bào chủ chứa vector này.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa polypeptit theo sáng chế và chất mang được dụng. Dược phẩm này có thể được sử dụng trong điều trị, cải thiện hoặc phòng ngừa bệnh viêm khớp hoặc tổn thương khớp ở bệnh nhân. Ví dụ về tình trạng bệnh có thể thu được lợi ích từ các phương pháp này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh viêm khớp (ví dụ, viêm xương khớp, viêm khớp do chấn thương) và tổn thương khớp (ví dụ, chấn thương khớp cấp tính).

Việc sử dụng nêu trên bao gồm điều trị bệnh cho đối tượng có bị hoặc có nguy cơ bị tổn thương khớp và/hoặc viêm khớp, bao gồm việc cho đối tượng dùng lượng có hiệu quả điều trị bệnh của một hoặc nhiều polypeptit theo sáng chế hoặc được phẩm chứa chúng. Cũng vẫn được đề xuất là polypeptit theo sáng chế để sử dụng trong phương pháp cảm ứng sự biệt hóa tế bào gốc trung mô thành tế bào sụn.

Các khía cạnh này và các khía cạnh khác theo sáng chế, bao gồm các đặc tính, thuận lợi và các phương án bổ sung theo sáng chế, sẽ được mô tả và làm sáng tỏ một cách chi tiết trong phần mô tả chi tiết sáng chế và yêu cầu bảo hộ theo sáng chế.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 mô tả sơ đồ của protein hANGPTL3 được thiết kế để cải thiện tính ổn định của protein và để tăng cường tính kháng protein phân giải. Trong quá trình tạo protein của các trình tự protein và peptit kiểu đại, sự phân cắt 100% được nhận thấy giữa Lys423 và Ser424. Để giảm sự phân giải protein, các peptit đột biến khác nhau được tạo ra trong đó Lys 423 được tạo đột biến thành Gln hoặc Ser; hoặc Ser424 được tạo đột biến thành Thr; hoặc Lys 423 bị loại bỏ.

Fig.2A và B mô tả sự biểu diễn bằng đồ thị sự biểu hiện của các protein cụ thể của sụn khi có hoặc khi không có ANGPTL3 và cấu trúc thiết kế được. Tế bào đã được

cố định được nhuộm màu để định lượng tiền collagen loại 2A (PIIANP) của 2A hoặc để định lượng collagen loại II của 2B để xác định % sự biệt hóa của tế bào thành tế bào sụn sau sự điều trị như được mô tả trong phần ví dụ thực hiện sáng chế. Fig.2C mô tả sự biểu diễn bằng đồ thị sự định lượng của thử nghiệm tạo mạch khi có hoặc khi không có ANGPTL3 hoặc cấu trúc thiết kế được khi được so sánh với protein đối chứng dương tính, bFGF. Tổng chiều dài ống và số lượng điểm nhánh là các phép đo định lượng về sự tạo mạch. Mặc dù các nghiên cứu khác đã báo cáo hoạt tính tạo mạch ở ANGPTL3 và nghiên cứu này khẳng định hoạt tính của FGF; các kết quả này đã cho thấy không có hoạt tính đáng kể nào được giữ lại trong cấu trúc ANGPTL3 đầu tận cùng C-.

Fig.3 là sự biểu diễn bằng đồ thị thể hiện độ tăng sự biểu hiện của các protein cụ thể của sụn khi có ANGPTL3 hoặc cấu trúc thiết kế được. 3A. Tế bào được đánh giá mười ngày sau điều trị bằng cách sử dụng qRT-PCR để đo sự biểu hiện của ARN đối với protein cụ thể của sụn sau điều trị như được mô tả. Lubrixin, aggrecan và Sox9 thể hiện protein liên quan đến sụn; IGF và IFITM1 thể hiện tiềm năng biệt hóa và osteocalcin và collagen loại X thể hiện protein liên quan đến xương/xơ hóa. 3B. Tế bào được đánh giá ba ngày sau điều trị như được mô tả. Sự biểu hiện aggrecan tăng được quan sát sau điều trị bằng cấu trúc thiết kế được hoặc polypeptit vùng tận cùng C- của ANGPTL1 kiểu đại.

Fig.4 mô tả sự biểu diễn bằng đồ thị hoạt tính bảo vệ sụn của ANGPTL3 và cấu trúc thiết kế được. 4A: sự giải phóng glycosaminoglycan (GAG), chỉ thị tổn thương cơ chất, bị ức chế bằng lượng tăng của ANGPTL3 và cấu trúc đột biến. Các thử nghiệm ức chế sự giải phóng GAG ex vivo (chỉ thị tổn thương cơ chất) được thực hiện bằng cách sử dụng sụn bò mà đã được điều trị khi có hoặc khi không có các cấu trúc như được mô tả. 4B và 4C: sự giải phóng NO bị ức chế bằng lượng tăng của ANGPTL3 và cấu trúc thiết kế được như được chỉ ra. Tế bào sụn được điều trị khi có hoặc khi không có các cấu trúc như được mô tả tiếp đó bằng thử nghiệm phản ứng Greiss để xác định sự ức chế giải phóng NO như chỉ thị bảo vệ sụn.

Fig.5 mô tả sự biểu diễn bằng đồ thị thể hiện sự ức chế biểu hiện collagen loại X (chỉ thị của hoạt tính tạo sụn xơ hóa) khi có các cấu trúc trong tình trạng phì đại. Tế bào sụn sơ cấp được điều trị khi không có các cấu trúc trong trạng thái phì đại như

được mô tả, tiếp đó là xác định biểu hiện collagen loại X, được đánh giá bằng huỳnh quang miễn dịch, dưới dạng phép đo sự tạo ra sụn xơ hóa và phì đại/sự biệt hóa tế bào sụn. 5A mô tả kết quả của ANGPTL3 đầu tận cùng C- kiểu đại hoặc cấu trúc thiết kế được. 5B mô tả kết quả ANGPTL3 đầu tận cùng C- (WT) hoặc các cấu trúc thiết kế được 242KQ hoặc 242Kdel hoặc ANGPTL1 đầu tận cùng C-.

Fig.6 mô tả sự biểu diễn bằng sơ đồ về mô hình phân liều (6A), tiếp đó là sự biểu diễn bằng đồ thị (6B) sự cải thiện về mức độ nặng của bệnh khớp sau khi điều trị bằng ANGPTL3 của chuột nhắt (17-460) như được đo bằng điểm ăn mòn sụn của lõi cầu mấu khớp xương đùi bên.

Fig.7 là sự biểu diễn bằng đồ thị phép đo mất khả năng (chỉ thị về đau) ở chuột nhắt sau sự cảm ứng phẫu thuật của tổn thương sụn và sự điều trị tiếp theo bằng các cấu trúc ANGPTL3 một lần hằng tuần trong ba tuần (bắt đầu vào ngày 7). 7A thể hiện phép đo mất khả năng vào ngày 35 sau phẫu thuật; và 7B thể hiện phép đo được thực hiện vào ngày 56 sau phẫu thuật.

Fig.8 là sự biểu diễn bằng đồ thị tổng số điểm mức độ nặng của bệnh khớp và sự cải thiện về mức độ nặng đối với tổn thương sụn được cảm ứng bằng collagenaza ở chuột nhắt sau 3 ngày của sự điều trị một lần hằng tuần (ngày 7, 14 và 21) của cấu trúc ANGPTL3 (đã chỉ ra).

Fig.9 mô tả kết quả trong mô hình sụn chêm rách của chuột về tổn thương khớp sau điều trị bằng cấu trúc ANGPTL3 thiết kế được. Fig.9A là sự biểu diễn bằng đồ thị về hàm lượng proteoglycan trong khớp năm tuần sau điều trị; Fig.9B là sự biểu diễn bằng đồ thị điểm mức độ nặng khớp đùi năm tuần sau điều trị. Kết quả minh họa sự cải thiện đối với tổn thương sụn được cảm ứng bằng cách phẫu thuật sụn chêm ở chuột sau 3 ngày điều trị một lần hằng tuần (ngày 7, 14 và 21) cấu trúc ANGPTL3 (chỉ định).

Fig.10 mô tả kết quả ở mô hình sụn chêm rách của chuột về tổn thương khớp sau điều trị bằng cấu trúc ANGPTL3 thiết kế được. Fig.10A là sự biểu diễn bằng đồ thị về phần trăm sự sửa chữa in vivo như được đo bằng mức độ nặng, độ mạnh safranin O, diện tích sụn và độ dày sụn. Fig.10B là sự biểu diễn bằng đồ thị về phép đo mất khả năng (chỉ thị về đau) ở chuột sau khi cảm ứng phẫu thuật tổn thương sụn và sự điều trị tiếp theo.

Fig.11 là sự biểu diễn bằng đồ thị tổng điểm mức độ nặng để minh họa sự cải thiện tổn thương sụn được cảm ứng bằng sự phân chia bằng cách phẫu thuật sụn chêm trong ở chó sau liều hai tuần một lần bắt đầu vào ngày 4 (mỗi liều 1,5ug/liều hoặc 15ug/liều) hoặc một liều đơn 30ug) được dùng chỉ vào ngày 7.

Mô tả chi tiết sáng chế

Ít nhất là một phần, sáng chế dựa trên cơ sở nét để nhận diện polypeptit giống angiopoietin- 3 (ANGPTL3) mà kích thích sự biệt hóa tế bào sụn của tế bào gốc trung mô và kháng đối với sự phân cắt bởi proteaza (ví dụ, proteaza tương tự trypsin). Tài liệu công bố đơn quốc tế số WO2011/008773, mô tả chế phẩm peptit ANGPTL3 và việc sử dụng chế phẩm peptit để điều trị hoặc phòng ngừa viêm khớp và chấn thương khớp và để cảm ứng sự biệt hóa tế bào trung mô thành tế bào sụn. Chúng tôi nhận thấy rằng protein ANGPTL3 kiểu đại trải qua sự phân cắt và sự không ổn định của proteaza và có các biến thể về trình tự xác định được để giảm nhẹ tác động này. Do đó, sáng chế đề xuất chế phẩm peptit cải tiến để sửa chữa sụn. Cụ thể, sáng chế đề xuất peptit ANGPTL3 được cải biến theo sáng chế để có tính kháng proteaza tăng khi được so sánh với polypeptit ANGPTL3 kiểu đại. Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm và việc sử dụng chúng để điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện bệnh viêm khớp hoặc chấn thương khớp bằng cách dùng polypeptit theo sáng chế vào trong khớp, mô sụn hoặc mô gân sụn, hoặc toàn thân. Ngoài ra, sáng chế đề xuất polypeptit theo sáng chế để sử dụng trong phương pháp cảm ứng sự biệt hóa tế bào gốc trung mô thành tế bào sụn.

Định nghĩa

Thuật ngữ “kháng proteaza” như được sử dụng ở đây dùng để chỉ polypeptit chứa cải biến mà làm cho polypeptit này miễn cảm đối với sự phân cắt bởi proteaza tương tự trypsin ít hơn so với polypeptit kiểu đại không được cải biến. Được bộc lộ ở đây là polypeptit ANGPTL3 kháng proteaza mà có sự thể axit amin, so với trình tự peptit kiểu đại tự nhiên, ở gốc R hoặc gốc K.

“ANGPTL3” dùng để chỉ một thành viên của họ protein angiopoietin. Trình tự axit amin của ANGPTL3 (số hiệu lưu giữ tại ngân hàng gen số NP_055310.1) được nêu trong SEQ ID NO:1; và trình tự polynucleotit tương ứng của nó được nêu là SEQ ID NO: 2 (trình tự tham chiếu NCBI số NM014495.2, trong đó trình tự mã hóa ANGPTL3 chứa nt 52-1434 nêu trong SEQ ID NO:2). “Polypeptit ANGPTL3” dùng

để chỉ polypeptit được biểu hiện có ngoài tự nhiên. Đối với các mục đích của sáng chế, việc đánh số axit amin thường được xác định có tham chiếu đến trình tự polypeptit ANGPTL3 của người kiểu dại có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO:1). Do đó, theo các phương án, trong đó polypeptit theo sáng chế chỉ chứa phần đầu tận cùng C- của ANGPTL3 có chiều dài đầy đủ, chứ không phải phần đầu tận cùng N-, mặc dù peptit này có độ dài ít hơn 460 axit amin, việc đánh số các vị trí dựa vào SEQ ID NO:1. Ví dụ, sự tham chiếu đến vị trí 423 của polypeptit ANGPTL3 theo sáng chế dùng để chỉ vị trí 423 nêu trong SEQ ID NO:1, thậm chí mặc dù bản thân polypeptit ANGPTL3 theo sáng chế có thể chỉ có độ dài 200 axit amin. Trong việc xác định axit amin trong trình tự quan tâm mà “tương ứng với” một vị trí trong trình tự tham chiếu, chẳng hạn như SEQ ID NO:1, điều này được thực hiện bằng cách bắt cặp tối ưu các trình tự này, ví dụ, bằng cách sử dụng các thông số bắt cặp CLUSTAL mặc định hoặc các thông số bắt cặp BLAST 2 mặc định và so sánh các trình tự này. Ví dụ, vị trí 423 trong trình tự quan tâm mà “được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1”, hoặc axit amin mà “tương ứng với” vị trí 423 nêu trong SEQ ID NO:1, có nghĩa là axit amin mà so sánh với vị trí 423 nêu trong SEQ ID NO:1 khi trình tự quan tâm được bắt cặp tối ưu với SEQ ID NO:1.

Các thuật ngữ “peptit bất chức” và “giả” dùng để chỉ hợp chất hóa học tổng hợp mà về cơ bản có cùng đặc tính chức năng của polypeptit có ngoài tự nhiên hoặc không có ngoài tự nhiên (ví dụ, ANGPTL3), nhưng có các đặc tính cấu trúc khác biệt (mặc dù thường tương tự). Chất tương tự peptit thường được sử dụng trong lĩnh vực này dưới dạng hoạt chất không peptit (ví dụ, dược chất) có đặc tính tương tự đặc tính của peptit khuôn. Các hợp chất không peptit này được gọi là "giả peptit" hoặc "peptit bất chức" (Fauchere, J. Adv. Drug Res. 15:29 (1986); Veber and Freidinger TINS p. 392 (1985); và Evans et al. J. Med. Chem. 30:1229 (1987)). Chất giả peptit mà tương tự về cấu trúc với peptit hữu dụng trị liệu có thể được sử dụng để tạo hiệu quả trị liệu bệnh hoặc phòng ngừa tương đương hoặc tăng. Nói chung, peptit bất chức tương tự cấu trúc với polypeptit mẫu (nghĩa là, polypeptit mà có hoạt tính sinh học hoặc dược lý), chẳng hạn như được tìm thấy trong polypeptit quan tâm, nhưng có một hoặc nhiều liên kết peptit tùy ý được thay thế bằng liên kết được chọn từ nhóm bao gồm, ví dụ, -CH₂NH-, -CH₂S-, -CH₂-CH₂-, -CH=CH- (cis và trans), -COCH₂-, -CH(OH)CH₂- và -CH₂SO-. Chất giả có thể hoàn toàn bao gồm chất tổng hợp, không có ngoài tự nhiên

của axit amin, hoặc, phân tử khảm của axit amin chứa peptit có ngoài tự nhiên một phần và chất tương tự axit amin không có ngoài tự nhiên một phần. Chất giả cũng có thể kết hợp với lượng bất kỳ của các phân tử thể bảo thủ của axit amin ngoài tự nhiên miễn là các phân tử thể này cũng không làm thay đổi đáng kể cấu trúc và/hoặc hoạt tính của chất giả này.

Các thuật ngữ "polypeptit," "peptit" và "protein" được sử dụng thay thế lẫn nhau ở đây dùng để chỉ polyme của gốc axit amin. Các thuật ngữ này áp dụng đối với polyme axit amin trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin là chất giả hóa học nhân tạo của axit amin có ngoài tự nhiên tương ứng, cũng như áp dụng đối với polyme axit amin có ngoài tự nhiên và polyme axit amin không có ngoài tự nhiên. Polypeptit, peptit và protein theo sáng chế chứa peptit bất chức ANGPTL3 kháng proteaza có hoạt tính tạo sụn.

Thuật ngữ "axit amin" dùng để chỉ axit amin có ngoài tự nhiên và axit amin tổng hợp, cũng như chất tương tự axit amin và chất giả axit amin mà hoạt động chức năng theo cách tương tự axit amin có ngoài tự nhiên. Axit amin có ngoài tự nhiên là các axit amin được mã hóa bằng mã di truyền, cũng như các axit amin được cải biến chậm hơn, ví dụ, hydroxyprolin, γ -carboxyglutamat và O-phosphoserin. Chất tương tự axit amin dùng để chỉ hợp chất có cấu trúc hóa học cơ bản giống với axit amin có ngoài tự nhiên, nghĩa là, α cacbon gắn kết với hydro, nhóm carboxyl, nhóm amino và nhóm R, ví dụ, homoserin, norleuxin, methionin sulfoxit, methionin metyl sulfoni. Các chất tương tự này có nhóm R được cải biến (ví dụ, norleuxin) hoặc khung peptit được cải biến, nhưng vẫn giữ cấu trúc hóa học cơ bản giống axit amin có ngoài tự nhiên. Các axit amin được mã hóa ngoài tự nhiên là 20 axit amin thông thường (alanin, arginin, asparagin, axit aspartic, xystein, glutamin, axit glutamic, glyxin, histidin, isoleuxin, leuxin, lysin, methionin, phenylalanin, prolin, serin, threonin, tryptophan, tyrosin và valin) cũng như pyrolysin, pyrolin-carboxy-lysin và selenoxystein.

"Biến thể được cải biến bảo toàn" áp dụng cho cả trình tự axit amin và trình tự axit nucleic. Liên quan đến trình tự axit nucleic cụ thể, biến thể được cải biến bảo toàn dùng để chỉ các axit nucleic mã hóa trình tự axit amin giống hoặc về cơ bản giống, hoặc trong đó axit nucleic này không mã hóa trình tự axit amin, thành trình tự về cơ bản giống. Do tính thoái hóa của mã di truyền, lượng lớn axit nucleic giống về mặt

chức năng mã hóa protein đã cho bất kỳ. Ví dụ, các codon GCA, GCC, GCG và GCU đều mã hóa axit amin alanin. Do đó, ở mỗi vị trí trong đó alanin được cụ thể hóa bằng một codon, codon này có thể được thay đổi thành codon bất kỳ trong số các codon tương ứng đã được mô tả mà không kèm theo sự thay đổi polypeptit được mã hóa. Các biến thể axit nucleic như vậy là "biến thể im lặng", là một biến thể trong số các biến thể được cải biến bảo toàn. Mỗi trình tự polypeptit ở đây mà được mã hóa bởi polynucleotit bao gồm mỗi biến thể im lặng có thể có của axit nucleic. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận thấy rằng mỗi codon trong axit nucleic (ngoại trừ AUG, mà thường là codon duy nhất đối với methionin và TGG, mà thường là codon duy nhất đối với tryptophan) có thể được cải biến để tạo ra phân tử giống về mặt chức năng. Do đó, mỗi biến thể im lặng của axit nucleic mà mã hóa polypeptit là tuyệt đối ở mỗi trình tự được mô tả.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận thấy rằng sự thay thế, sự loại bỏ hoặc sự bổ sung riêng lẻ vào trình tự axit nucleic, peptit, polypeptit, hoặc protein mà làm thay đổi, bổ sung hoặc loại bỏ một axit amin đơn lẻ hoặc tỷ lệ phần trăm nhỏ các axit amin có tham chiếu đến trình tự axit amin được mã hóa gốc dẫn đến "biến thể được cải biến bảo toàn" trong đó sự thay đổi tạo ra sự thay thế axit amin bằng trình tự axit amin và/hoặc trình tự polypeptit tương tự về mặt hóa học mà tạo ra protein tương tự về mặt cấu trúc có hoạt tính chức năng tương tự protein gốc. Các bảng về sự thay thế bảo toàn cung cấp các axit amin tương tự về mặt chức năng đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Các biến thể được cải biến bảo toàn như vậy liên quan đến và không loại trừ biến thể đa hình, dạng tương đồng giữa các loài và alen theo sáng chế.

Thuật ngữ "sự thay thế axit amin bảo toàn" dùng để chỉ sự thay thế (về mặt khái niệm hoặc hoặc về mặt khác) axit amin từ một nhóm bằng axit amin khác từ cùng một nhóm. Ví dụ về sự thay thế dựa trên sự phân tích số lần chuẩn sự thay đổi axit amin giữa các protein tương ứng của các sinh vật tương đồng (xem, ví dụ, Schulz, G. E. và R. H. Schirmer, *Principles of Protein Structure*, Springer-Verlag). Theo các phân tích này, các nhóm axit amin có thể được xác định trong đó các axit amin trong một nhóm ưu tiên trao đổi với nhau và, do đó, giống nhau nhất về ảnh hưởng của chúng đối với toàn bộ cấu trúc protein (xem, ví dụ, Schulz, G. E. và R. H. Schirmer, *Principles of Protein Structure*, Springer-Verlag). Một ví dụ về một bộ các nhóm axit amin mà được

xác định theo cách này bao gồm: (i) nhóm tích điện, bao gồm Glu và Asp, Lys, Arg và His; (ii) nhóm tích điện dương, bao gồm Lys, Arg và His; (iii) nhóm tích điện âm, bao gồm Glu và Asp; (iv) nhóm thơm, bao gồm Phe, Tyr và Trp; (v) nhóm vòng chứa nitơ, bao gồm His và Trp; (vi) nhóm không phân cực béo lớn, bao gồm Val, Leu và Ile; (vii) nhóm phân cực không đáng kể, bao gồm Met và Cys; (viii) nhóm gốc nhỏ, bao gồm Ser, Thr, Asp, Asn, Gly, Ala, Glu, Gln và Pro; (ix) nhóm béo bao gồm Val, Leu, Ile, Met và Cys; và (x) nhóm hydroxyl nhỏ bao gồm Ser và Thr. Ví dụ khác về sự thay thế bảo toàn mà dựa vào các đặc tính vật lý chung là sự thay thế trong các nhóm sau đây: 1) Alanin (A), Glyxin (G); 2) axit aspartic (D), axit glutamic (E); 3) Asparagin (N), Glutamin (Q); 4) Arginin (R), Lysin (K); 5) Isoleuxin (I), Leuxin (L), Methionin (M), Valin (V); 6) Phenylalanin (F), Tyrosin (Y), Tryptophan (W); 7) Serin (S), Threonin (T); và 8) Xystein (C), Methionin (M) (xem, ví dụ, Creighton, Proteins (1984)).

“Phần trăm sự giống nhau về trình tự” được xác định bằng cách so sánh hai trình tự được bắt cặp tối ưu qua cửa sổ so sánh, trong đó phần trình tự axit amin hoặc trình tự polynucleotit trong cửa sổ so sánh có thể bao gồm đoạn bổ sung hoặc đoạn loại bỏ (nghĩa là, gap) khi được so sánh với trình tự tham chiếu (ví dụ, polypeptit theo sáng chế), mà không bao gồm đoạn bổ sung hoặc đoạn loại bỏ, đối với sự bắt cặp tối ưu hai trình tự này. Phần trăm được tính bằng cách xác định số lượng các vị trí mà tại đó bazơ của axit nucleic hoặc gốc axit amin giống nhau xuất hiện ở cả hai trình tự để tạo ra số lượng các vị trí thích hợp, chia số lượng các vị trí thích hợp cho tổng số vị trí trong cửa sổ so sánh và nhân kết quả này với 100 để thu được phần trăm sự giống nhau về trình tự.

Các thuật ngữ “đồng nhất” hoặc “giống nhau” tính theo phần trăm trong ngữ cảnh về hai hoặc nhiều trình tự axit nucleic hoặc polypeptit, dùng để chỉ hai hoặc nhiều trình tự hoặc dưới trình tự mà là các trình tự giống nhau. Hai trình tự là "hầu như giống nhau" nếu hai trình tự có tỷ lệ phần trăm cụ thể các gốc axit amin hoặc các nucleotit mà giống nhau (nghĩa là, 95% sự giống nhau, tùy ý 96%, 97%, 98%, hoặc 99% sự giống nhau trên vùng cụ thể, hoặc, khi không được cụ thể hóa, trên toàn bộ trình tự), khi được so sánh và bắt cặp cho sự tương ứng tối đa trên cửa sổ so sánh, hoặc vùng được chọn khi được đo bằng cách sử dụng một trong số các thuật toán so sánh trình tự sau đây hoặc bằng sự bắt cặp thủ công và sự kiểm tra bằng mắt. Sáng chế đề

xuất polypeptit hầu như giống các polypeptit được minh họa ở đây (ví dụ, polypeptit bất kỳ nêu trong SEQ ID NOs: 11-42), cũng như đề xuất việc sử dụng chúng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc sử dụng để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh viêm khớp hoặc chấn thương khớp. Tùy ý, đối với axit nucleic, sự giống nhau tồn tại trên vùng mà có độ dài ít nhất khoảng 150 nucleotit, hoặc tốt hơn nữa trên vùng có độ dài từ 300 đến 450 hoặc 600 nucleotit hoặc nhiều hơn, hoặc toàn bộ độ dài trình tự tham chiếu. Đối với trình tự axit amin, tùy ý, sự giống nhau tồn tại trên vùng có độ dài ít nhất khoảng 50 axit amin, hoặc tốt hơn nữa trên vùng có độ dài từ 100 đến 150 hoặc 200 axit amin hoặc nhiều hơn, hoặc toàn bộ độ dài trình tự tham chiếu.

Đối với việc so sánh trình tự, thường một trình tự hoạt động dưới dạng trình tự tham chiếu mà theo đó các trình tự kiểm tra được so sánh. Khi sử dụng thuật toán so sánh trình tự, các trình tự kiểm tra và trình tự tham chiếu được nhập vào máy tính, các tọa độ dưới trình tự được chọn, nếu cần và các thông số chương trình của thuật toán về trình tự được chọn. Thông số chương trình mặc định có thể được sử dụng, hoặc các thông số khác có thể được chọn. Tiếp đó, thuật toán so sánh trình tự tính toán sự giống nhau về trình tự theo phần trăm đối với các trình tự kiểm tra so với trình tự tham chiếu, dựa vào thông số của chương trình.

“Cửa sổ so sánh”, như được sử dụng ở đây, bao gồm sự tham chiếu đến một đoạn của vị trí bất kỳ trong số các vị trí liên kề được chọn từ nhóm bao gồm từ 50 đến 600, thường từ khoảng 75 đến khoảng 200, thông thường hơn từ khoảng 100 đến khoảng 150 trong đó một trình tự có thể được so sánh với trình tự tham chiếu có cùng số lượng các vị trí liên kề sau khi hai trình tự này được bắt cặp tối ưu. Các phương pháp bắt cặp trình tự để cho việc so sánh đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Sự bắt cặp tối ưu trình tự dành cho việc so sánh có thể được thực hiện, ví dụ, bằng thuật toán tương đồng cục bộ của Smith và Waterman (1970) *Adv. Appl. Math.* 2:482c, bằng thuật toán bắt cặp tương đồng của Needleman và Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443, bằng tra cứu đối với phương pháp tương tự của Pearson và Lipman (1988) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444, bằng triển khai vi tính hóa các thuật toán này (GAP, BESTFIT, FASTA và TFASTA), hoặc bằng cách bắt cặp thủ công và kiểm tra bằng mắt (xem, ví dụ, Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (bổ sung năm 1995)).

Hai ví dụ về các thuật toán mà thích hợp để xác định sự giống nhau về trình tự theo phần trăm và sự tương tự về trình tự là các thuật toán BLAST và BLAST 2.0, mà đã được mô tả lần lượt trong Altschul et al. (1977) *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402 và Altschul et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410. Phần mềm để thực hiện các phân tích BLAST sẵn có đối với công chúng thông qua Trung tâm thông tin công nghệ sinh học quốc gia (National Center for Biotechnology Information). Thuật toán này bao gồm việc xác định ban đầu các cặp trình tự ghi điểm cao (HSP) bằng cách xác định các từ có độ dài ngắn W trong trình tự truy vấn, mà phù hợp hoặc đáp ứng điểm ngưỡng giá trị dương nhất định T khi được xếp thẳng hàng trình tự với từ có cùng độ dài trong trình tự cơ sở dữ liệu. T được đề cập đến dưới dạng ngưỡng điểm từ lân cận (Altschul et al., *supra*). Các vùng đồng nhất chính xác từ lân cận ban đầu này hoạt động dưới dạng mầm để khởi động tra cứu để tìm ra HSP dài hơn chứa chúng. Các vùng đồng nhất chính xác từ này được mở rộng ở cả hai hướng dọc mỗi trình tự cho đến khi điểm xếp thẳng hàng trình tự tích lũy có thể tăng lên. Các điểm tích lũy được tính toán bằng cách sử dụng, đối với trình tự nucleotit, thông số M (điểm thưởng đối với cặp các gốc bắt cặp; luôn > 0) và N (điểm phạt đối với các gốc bắt cặp sai; luôn < 0). Đối với trình tự axit amin, ma trận tính điểm được sử dụng để tính điểm tích lũy. Việc mở rộng các vùng đồng nhất chính xác từ ở mỗi hướng được dừng khi: điểm xếp thẳng hàng trình tự tích lũy giảm đến giá trị X từ giá trị đạt được cực đại của nó; điểm tích lũy trở thành không hoặc thấp hơn, do sự tích lũy một hoặc nhiều chuỗi xếp thẳng hàng trình tự gốc ghi điểm âm; hoặc đầu của trình tự đạt được. Các thông số của thuật toán BLAST W, T và X xác định độ nhạy và tốc độ của xếp thẳng hàng trình tự. Chương trình BLASTN (đối với trình tự nucleotit) sử dụng dưới dạng mặc định chiều dài từ (W) là 11, giá trị dự tính (E) hoặc 10, M=5, N=-4 và so sánh cả hai sợi. Đối với trình tự axit amin, chương trình BLASTP sử dụng dưới dạng mặc định chiều dài từ là 3 và giá trị dự tính (E) là 10 và ma trận ghi điểm BLOSUM62 (xem Henikoff và Henikoff (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915) xếp thẳng hàng trình tự (B) là 50, giá trị dự tính (E) là 10, M=5, N=-4 và so sánh cả hai sợi.

Thuật toán BLAST cũng tiến hành phân tích thống kê sự tương tự giữa hai trình tự (xem, ví dụ, Karlin và Altschul (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877). Một phép đo về sự tương tự được đề xuất bởi thuật toán BLAST là tổng xác suất nhỏ nhất ($P(N)$), mà cung cấp sự dấu hiệu về xác suất mà sự bắt cặp giữa hai trình

tự nucleotit hoặc axit amin sẽ xuất hiện ngẫu nhiên. Ví dụ, axit nucleic được coi là tương tự với trình tự tham chiếu nếu tổng xác suất nhỏ nhất trong phép so sánh của axit nucleic kiểm tra với axit nucleic tham chiếu thấp hơn khoảng 0,2, tốt hơn nữa là thấp hơn khoảng 0,01 và tốt nhất là thấp hơn khoảng 0,001.

Thuật ngữ “phân lập được,” khi được dùng cho axit nucleic hoặc protein, chỉ ra rằng axit nucleic hoặc protein này được tinh sạch để hầu như không có các thành phần tế bào khác mà nó liên quan đến ở trạng thái tự nhiên. Nó thường ở trạng thái đồng nhất hoặc gần như đồng nhất. Nó có thể trong dung dịch khô hoặc dung dịch nước. Độ tinh sạch và độ đồng nhất có thể được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật hóa phân tích đã được biết và thường được sử dụng trong lĩnh vực này, ví dụ, điện di gel polyacrylamit, sắc ký lỏng hiệu năng cao v.v.. Protein loại chiếm ưu thế có trong chế phẩm điều chế được tinh sạch về cơ bản. Thuật ngữ “tinh sạch” theo một số phương án chỉ ra rằng protein về cơ bản thu được một băng trong gel điện di. Thông thường, nó có nghĩa rằng một protein ít nhất là tinh sạch 85%, tốt hơn nữa ít nhất là tinh sạch 95% và tốt nhất ít nhất là tinh sạch 99%.

Thuật ngữ “axit hyaluronic” được sử dụng ở đây để bao gồm dẫn xuất của axit hyaluronic mà bao gồm este của axit hyaluronic, muối của axit hyaluronic và cũng bao gồm thuật ngữ hyaluronan. Sự gọi tên này cũng bao gồm cả dạng có trọng lượng phân tử thấp và dạng có trọng lượng phân tử cao của hyaluronan và hyaluronan được liên kết ngang hoặc hylan được liên kết ngang. Ví dụ về các hyaluronan như vậy là Synvisc™ (Genzyme Corp. Cambridge, Mass.), ORTHOVISC™ (Anika Therapeutics, Woburn, Mass.), HYALGAN™ (Sanofi-Synthelabo Inc., Malvern, Pa.) và ProVisc (Alcon/Novartis).

Nếu không có quy định khác, khi được sử dụng trong phần mô tả và yêu cầu bảo hộ, dạng số ít bao gồm sự tham chiếu đến dạng số nhiều.

Polypeptit tương tự angiopoietin- 3 kháng proteaza

Polypeptit tương tự angiopoietin- 3 là thành viên của họ polypeptit tương tự angiopoietin của các yếu tố được tiết. Nó được biểu hiện ưu thế ở gan và có cấu trúc đặc trưng của angiopoietin, bao gồm peptit tín hiệu, miền cuộn- được cuộn đầu tận cùng N- (coiled-coil domain - CCD) và miền tương tự fibrinogen đầu tận cùng C (fibrinogen-FBN). Polypeptit tương tự angiopoietin- 3 được thể hiện là gắn kết

integrin $\alpha V/\beta 3$ và chỉ riêng miền tương tự FBN là đủ để cảm ứng sự bám dính của tế bào nội mạc và sự tạo mạch in vivo (Camenisch et al., J. Biol. Chem. 277: 17281-17290, 2002). ANGPTL3 nội sinh thường được phân cắt in vivo thành mảnh đầu amino và mảnh đầu carboxy. Như được tóm tắt ở trên và được mô tả chi tiết hơn ở đây, sáng chế dự tính việc sử dụng các protein ANGPTL3 kháng proteaza khác nhau có hoạt tính tạo sụn.

Theo một số phương án, polypeptit phân lập được chứa trình tự axit amin mà có ít nhất 95% sự giống với trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự của bảng 1, trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423 hoặc polypeptit này chứa sự loại bỏ ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1. Polypeptit theo sáng chế có hoạt tính tạo sụn. Theo một số phương án, polypeptit chứa trình tự axit amin mà có ít nhất 95% sự giống với trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, hoặc SEQ ID NO:70, trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423 hoặc polypeptit này chứa sự loại bỏ ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 và polypeptit này có hoạt tính tạo sụn. Theo phương án khác, polypeptit chứa trình tự axit amin mà có ít nhất 95% sự giống với trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, hoặc SEQ ID NO:64 trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 và polypeptit này có hoạt tính tạo sụn.

Theo một số phương án, polypeptit phân lập được chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự của bảng 1, trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423 hoặc

polypeptit này chứa sự loại bỏ ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 và polypeptit này có hoạt tính tạo sụn. Theo một số phương án, polypeptit chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, hoặc SEQ ID NO:70 trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423 hoặc polypeptit này chứa sự loại bỏ ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 và polypeptit này có hoạt tính tạo sụn. Theo phương án khác, polypeptit chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, hoặc SEQ ID NO:64 trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 và polypeptit này có hoạt tính tạo sụn.

Theo một số phương án, polypeptit phân lập được có ít nhất 95% sự giống với trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự của bảng 1, trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423 hoặc polypeptit này chứa sự loại bỏ ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 và polypeptit này có hoạt tính tạo sụn. Theo một số phương án, polypeptit có ít nhất 95% sự giống với trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, hoặc SEQ ID NO:70, trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423 hoặc polypeptit này chứa sự loại bỏ ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 và polypeptit này có hoạt tính tạo sụn. Theo phương án khác, polypeptit có ít nhất 95% sự giống với trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ

trong số các trình tự SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, hoặc SEQ ID NO:64 trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 và polypeptit này có hoạt tính tạo sụn.

Theo một số phương án, polypeptit phân lập được là trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự của bảng 1. Theo một số phương án, polypeptit là trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, hoặc SEQ ID NO:70. Theo phương án khác, polypeptit là trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, hoặc SEQ ID NO:64.

Bảng 1: Các cấu trúc biến thể của ANGPTL3

SEQ ID	Cấu trúc	Trình tự
14	207KQ	IQEPTEISLSSKPRAPRTTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRG EHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNE TWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWK DNKH YIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFS TWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPR AQSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
15	207KS	IQEPTEISLSSKPRAPRTTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRG EHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNE TWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWK DNKHIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFS TWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPR ASSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
16	225KQ	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPRASQSKPERRRGLSWK SQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
17	225KS	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWK SQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
18	225ST	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPRAKTKPERRRGLSWK SQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
19	226KQ	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPRASQSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
20	226KS	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
21	228KQ	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPRASQSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
22	228KS	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGY SGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQN GRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
23	228ST	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGY SGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRAKTKPERRRGLSWKSQN GRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
24	233KQ	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCD VISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLE KIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGW WWHDECGENNLNGKYNKPRASQSKPERRRGLSWKSQNGRLY SIKSTKMLIHPTDSESFE
25	233KS	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCD VISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLE KIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGW WWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLYS IKSTKMLIHPTDSESFE
26	241KQ	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGE NNLNGKYNKPRASQSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTDSESFE
27	241KS	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGE NNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTDSESFE
28	242KQ	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGE NNLNGKYNKPRASQSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTDSESFE

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
29	242KS	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLI QHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPGEGYSGGWWWHDECCE NNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHP TDESFE
30	225-455KQ	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWK SQNGRLYSIKSTKMLIHPTD
31	225-455KS	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWK SQNGRLYSIKSTKMLIHPTD
32	226-455KQ	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPGEG YSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTD
33	226-455KS	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPGEG YSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTD
34	228-455KQ	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPGEGY SGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQNG RLYSIKSTKMLIHPTD
35	228-455KS	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPGEGY SGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNG RLYSIKSTKMLIHPTD

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
36	233-455KQ	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCD VISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLE KIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGW WWHDECGENNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQNGRLY SIKSTKMLIHPTD
37	233-455KS	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCD VISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLE KIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGW WWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLYS IKSTKMLIHPTD
38	241-455KQ	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGE NNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTD
39	241-455KS	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGE NNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTD
40	242-455KQ	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLI QHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGE NNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTD
41	242-455KS	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLI QHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGE NNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTD
58	207Kdel	IQEPTEISLSSKPRAPRTTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRG EHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNE TWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWK DNKHYIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFS TWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPR ASKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
59	225Kdel	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKS QNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
60	226Kdel	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQ N GRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
61	228Kdel	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQ N GRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
62	233Kdel	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQ N GRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
63	241Kdel	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQ N GRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
64	242Kdel	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQ N GRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
65	225- 455Kdel	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKS QNGRLYSIKSTKMLIHPTD

SEQ ID	Cấu trúc	Trình tự
66	226-455Kdel	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEG YSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNG RLYSIKSTKMLIHPTD
67	228-455Kdel	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEG YSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNG RLYSIKSTKMLIHPTD
68	233-455Kdel	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEG YSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNG RLYSIKSTKMLIHPTD
69	241-455Kdel	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEG YSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNG RLYSIKSTKMLIHPTD
70	242-455Kdel	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEG YSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNG RLYSIKSTKMLIHPTD

Polypeptit ANGPTL3 được cải biến được bộc lộ ở đây có ít nhất là một phần tử thế ở phần đầu tận cùng C- của polypeptit để biểu hiện tính kháng proteaza của polypeptit. Phần tử thế này là ở gốc R hoặc K sao cho polypeptit có tính kháng tăng, ví dụ, đối với proteaza tương tự trypsin. Axit amin phân cực bất kỳ có thể được thế đổi với R hoặc K ở vị trí 423 trong polypeptit ANGPTL3 kháng proteaza theo sáng chế. Theo một số phương án, phần tử thế là H, N, Q, S, T, A, hoặc Y. Theo một số phương án, phần tử thế là S hoặc Q. Theo một số phương án, phần tử thế là Q. Theo một số phương án, phần tử thế là S. Theo một số phương án, peptit kháng proteaza có axit amin phân cực ở vị trí 423, có tham chiếu đến SEQ ID NO:1, mà không phải là K hoặc

R. Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế chứa axit amin ở vị trí 423 mà là axit amin phân cực. Ví dụ, axit amin ở vị trí 423 có thể là Q hoặc S hoặc axit amin phân cực khác. Theo các phương án nhất định, polypeptit theo sáng chế có Q ở vị trí 423. Theo phương án khác, polypeptit theo sáng chế có S ở vị trí 423. Theo một số phương án, phần tử thể ở vị trí 423 như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1, là Q hoặc S. Vẫn theo các phương án khác, polypeptit theo sáng chế có sự loại bỏ ở vị trí 423 như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế có độ dài ít hơn hoặc bằng 250 axit amin và chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, hoặc SEQ ID NO:70.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất việc sử dụng protein ANGPTL3 tạo sụn kháng proteaza có chiều dài đầy đủ. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các protein ANGPTL3 kháng proteaza chứa phần đầu tận cùng C- của trình tự ANGPTL3, hoặc biến thể tạo sụn của nó. Theo các phương án nhất định, protein ANGPTL3 thiếu đầu amino của protein tự nhiên. Theo một số phương án, các protein ANGPTL3 kháng proteaza theo sáng chế thiếu miền CCD và/hoặc thiếu hoạt tính CCD đáng kể. Do đó, theo một số phương án, các protein ANGPTL3 kháng proteaza theo sáng chế chứa ít nhất là một mảnh (ví dụ, ít nhất là 100, 150, 200, 220 hoặc 215 axit amin liên kề) của miền tận cùng carboxy của protein ANGPTL3 của người, hoặc trình tự hầu như giống với trình tự protein ANGPTL3 đầu carboxy của người, trong đó polypeptit này và biến thể của nó vẫn giữ hoạt tính tạo sụn. Theo một số phương án, polypeptit kháng proteaza theo sáng chế thiếu ít nhất là một phần của trình tự đầu tận cùng C-, ví dụ, thiếu 5, 10, 15, hoặc 20 axit amin từ đầu tận cùng C- nêu trong SEQ ID NO:1 (nghĩa là, thiếu 456-460, 451-460, 446-460 hoặc 441-460 nêu trong SEQ ID NO:1).

Theo một số phương án, polypeptit ANGPTL3 kháng proteaza theo sự bộc lộ chứa axit amin liên kề tương ứng với các vùng axit amin: các axit amin 241-455, hoặc 241-460 nêu trong SEQ ID NO:1; các axit amin 242-455, hoặc 242-460 nêu trong

SEQ ID NO:1; các axit amin 233-455 hoặc 233-460 nêu trong SEQ ID NO:1; các axit amin 228-455 hoặc 228-460 nêu trong SEQ ID NO:1, các axit amin 226-455- hoặc 226-260 hoặc các axit amin 225-455- hoặc 225-260 nêu trong SEQ ID NO:1 trong đó axit amin được thế ở vị trí 423 đối với R hoặc K hoặc ở axit amin ở vị trí 423 như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 bị loại bỏ. Theo một số phương án, polypeptit kháng proteaza chứa axit amin liền kề tương ứng với các vùng axit amin 207-455 hoặc 207-460 nêu trong SEQ ID NO:1 trong đó axit amin ở vị trí 423 được thế đối với R hoặc K hoặc bị loại bỏ. Theo một số phương án, phần tử thế là axit amin phân cực, ví dụ, H, N, Q, S, T, A, hoặc Y. Theo một số phương án, phần tử thế là H, N, Q, S, T, hoặc Y. Theo một số phương án, phần tử thế là S hoặc Q. Theo một số phương án, phần tử thế là Q. Theo các phương án nhất định, bao gồm sự loại bỏ ở vị trí 423 liên quan đến SEQ ID NO:1.

Sáng chế còn đề xuất polypeptit kháng proteaza, trong đó polypeptit này chứa trình tự axit amin có ít nhất là 95% sự giống với các axit amin 240-454 nêu trong SEQ ID NO:1, các axit amin 241-455 nêu trong SEQ ID NO:1, hoặc các axit amin 242-455 nêu trong SEQ ID NO:1 có sự thay thế hoặc sự loại bỏ ở axit amin tương ứng với vị trí 423 nêu trong SEQ ID NO:1, trong đó axit amin được thế không phải là R hoặc K và trong đó polypeptit này có hoạt tính tạo sụn. Theo phương án khác, polypeptit này chứa các axit amin 240-454 nêu trong SEQ ID NO:1, các axit amin 241-455 nêu trong SEQ ID NO:1, hoặc các axit amin 242-455 nêu trong SEQ ID NO:1, mỗi polypeptit có sự thay thế hoặc sự loại bỏ tại axit amin tương ứng với vị trí 423 nêu trong SEQ ID NO:1, trong đó axit amin được thế là Q hoặc S.

Theo một số phương án, polypeptit ANGPTL3 kháng proteaza theo sáng chế chứa trình tự axit amin có ít nhất là 95% sự giống với các axit amin 242-455 hoặc 242-460 nêu trong SEQ ID NO:1; 241-455 hoặc 241-460 nêu trong SEQ ID NO:1; các axit amin 233-455 hoặc 233-460 nêu trong SEQ ID NO:1; các axit amin 228-455 hoặc 228-460 nêu trong SEQ ID NO:1, các axit amin 226-455- hoặc 226-260 nêu trong SEQ ID NO:1, hoặc các axit amin 225-455- hoặc 225-260 nêu trong SEQ ID NO:1 trong đó axit amin được thế đối với R hoặc K ở vị trí 423, hoặc axit amin ở vị trí 423 bị loại bỏ. Theo một số phương án, phần tử thế là axit amin phân cực, ví dụ, H, N, Q, S, T, A, hoặc Y. Theo một số phương án, phần tử thế là H, N, Q, S, T, hoặc Y. Theo một số phương án, phần tử thế là S hoặc Q. Theo một số phương án, phần tử thế là Q.

Theo các phương án nhất định, có một gốc bị loại bỏ ở vị trí 423 liên quan đến SEQ ID NO:1.

Theo một số phương án, polypeptit ANGPTL3 kháng proteaza theo sáng chế có độ dài ít hơn hoặc bằng 250 hoặc 240 axit amin và chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69 và SEQ ID NO:70. Theo một số phương án, polypeptit ANGPTL3 kháng proteaza theo sáng chế có độ dài ít hơn hoặc bằng 230 hoặc 225 và chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, hoặc SEQ ID NO:70.

Cũng được bộc lộ ở đây là protein ANGPTL3 kháng proteaza theo sáng chế chứa trình tự axit amin có ít nhất là 95% sự giống, hoặc ít nhất 96%, 97%, 98%, hoặc 99% sự giống, với trình tự protein ANGPTL3 đầu tận cùng C- của chó, bò, ngựa. Theo một số khía cạnh của sáng chế, các protein ANGPTL3 kháng proteaza theo sự bộc lộ chứa ít nhất là mảnh (ví dụ, ít nhất là 100, 150, 200, 215 axit amin liền kề) của trình tự protein ANGPTL3 của chó (SEQ ID NO:4), của ngựa (SEQ ID NO:5), hoặc bò (SEQ ID NO:6) tự nhiên, hoặc trình tự hầu như giống với trình tự protein ANGPTL3 của chó, bò, hoặc của ngựa tự nhiên trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423 hoặc polypeptit này chứa sự loại bỏ ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 và polypeptit này có hoạt tính tạo sụn. Theo một số khía cạnh của sáng chế, polypeptit phân lập được chứa trình tự axit amin có ít nhất là 95% sự giống, hoặc ít nhất 96%, 97%, 98%, hoặc 99% sự giống, với SEQ ID NO:42 hoặc SEQ ID NO:43, trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423 hoặc polypeptit này chứa sự loại bỏ ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1

và polypeptit này có hoạt tính tạo sụn. Theo một số khía cạnh của sáng chế, polypeptit có ít nhất 95% sự giống, hoặc ít nhất 96%, 97%, 98%, hoặc 99% sự giống, với SEQ ID NO:42, hoặc SEQ ID NO:43, trong đó polypeptit này chứa axit amin mà là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423 hoặc polypeptit này chứa sự loại bỏ ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 và polypeptit này có hoạt tính tạo sụn. Theo các khía cạnh nhất định của sáng chế, polypeptit chứa SEQ ID NO:42, hoặc SEQ ID NO:43. Theo khía cạnh khác của sáng chế, polypeptit là SEQ ID NO:42, hoặc SEQ ID NO:43.

Theo một số khía cạnh của sáng chế, ANGPTL3 kháng proteaza theo sáng chế chứa trình tự axit amin mà có ít nhất 95%, hoặc ít nhất 96%, 97%, 98%, hoặc ít nhất 99% sự giống với các axit amin 232-454 nêu trong SEQ ID NO:4, các axit amin 240-454 nêu trong SEQ ID NO:4, các axit amin 227-454 nêu trong SEQ ID NO:4, hoặc các axit amin 224-454 nêu trong SEQ ID NO:4, trong đó axit amin được thế đổi với R hoặc K hoặc có sự loại bỏ R hoặc K. Theo một số khía cạnh của sáng chế, sự thay thế hoặc sự loại bỏ là ở vị trí 422 nêu trong SEQ ID NO:4, mà tương ứng với vị trí 423 nêu trong SEQ ID NO:1. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là axit amin phân cực, ví dụ, H, N, Q, S, T, A, hoặc Y. Theo một số khía cạnh, phần tử thế là H, N, Q, S, T, hoặc Y. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là S hoặc Q. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là Q. Theo một số khía cạnh của sáng chế, sự loại bỏ axit amin là ở vị trí 422 nêu trong SEQ ID NO:4.

Theo một số khía cạnh của sáng chế, ANGPTL3 kháng proteaza theo sáng chế chứa trình tự axit amin mà có ít nhất 95%, hoặc ít nhất 96%, 97%, 98%, hoặc ít nhất 99% sự giống với các axit amin 233-455 nêu trong SEQ ID NO:5, các axit amin 241-455 nêu trong SEQ ID NO:5, các axit amin 228-455 nêu trong SEQ ID NO:5, hoặc các axit amin 225-455 nêu trong SEQ ID NO:5, trong đó axit amin được thế đổi với R hoặc K hoặc có sự loại bỏ R hoặc K. Theo một số khía cạnh của sáng chế, sự thay thế hoặc sự loại bỏ là ở vị trí 423 nêu trong SEQ ID NO:5, mà tương ứng với vị trí 423 nêu trong SEQ ID NO:1. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là axit amin phân cực, ví dụ, H, N, Q, S, T, A, hoặc Y. Theo một số phương án, phần tử thế là H, N, Q, S, T, hoặc Y. Theo một số phương án, phần tử thế là S hoặc Q. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là Q. Theo một số khía cạnh của sáng chế, sự loại bỏ axit amin là ở vị trí 423 nêu trong SEQ ID NO:5.

Theo một số khía cạnh của sáng chế, ANGPTL3 kháng proteaza theo sáng chế chứa trình tự axit amin mà có ít nhất 95%, hoặc ít nhất 96%, 97%, 98%, hoặc ít nhất 99% sự giống với các axit amin 233-455 nêu trong SEQ ID NO:6, các axit amin 241-455 nêu trong SEQ ID NO:6, các axit amin 228-455 nêu trong SEQ ID NO:6, hoặc các axit amin 225-455 nêu trong SEQ ID NO:6, trong đó axit amin được thế đổi với R hoặc K hoặc có sự loại bỏ R hoặc K. Theo một số khía cạnh của sáng chế, sự thay thế hoặc sự loại bỏ là ở vị trí 422 nêu trong SEQ ID NO:6, mà tương ứng với vị trí 423 nêu trong SEQ ID NO:1. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là axit amin phân cực, ví dụ, H, N, Q, S, T, A, hoặc Y. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là H, N, Q, S, T, hoặc Y. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là S hoặc Q. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là Q. Theo một số khía cạnh của sáng chế, sự loại bỏ axit amin là ở vị trí 422 nêu trong SEQ ID NO:6.

Theo một số khía cạnh của sáng chế, polypeptit ANGPTL3 kháng proteaza theo sự bộc lộ chứa axit amin liền kề tương ứng với các vùng axit amin: các axit amin 240-454 nêu trong SEQ ID NO:4; các axit amin 232-454 nêu trong SEQ ID NO:4; các axit amin 227-454 nêu trong SEQ ID NO:4, hoặc các axit amin 224-454 nêu trong SEQ ID NO:4, trong đó axit amin được thế đổi với R hoặc K hoặc có sự loại bỏ R hoặc K. Theo một số khía cạnh của sáng chế, sự thay thế hoặc sự loại bỏ là ở vị trí 422 nêu trong SEQ ID NO:4 (mà là vị trí 423 như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1). Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là axit amin phân cực, ví dụ, H, N, Q, S, T, A, hoặc Y. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là H, N, Q, S, T, hoặc Y. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là S hoặc Q. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là Q. Theo một số khía cạnh của sáng chế, sự loại bỏ axit amin là ở vị trí 422 nêu trong SEQ ID NO:4.

Theo một số khía cạnh của sáng chế, polypeptit ANGPTL3 kháng proteaza theo sự bộc lộ chứa axit amin liền kề tương ứng với các vùng axit amin: các axit amin 241-455 nêu trong SEQ ID NO:5; các axit amin 233-455 nêu trong SEQ ID NO:5; các axit amin 228-455 nêu trong SEQ ID NO:5, hoặc các axit amin 225-455 nêu trong SEQ ID NO:5, trong đó axit amin được thế đổi với R hoặc K hoặc có sự loại bỏ R hoặc K. Theo một số khía cạnh của sáng chế, sự thay thế hoặc sự loại bỏ là ở vị trí 423 (mà tương ứng với vị trí 423 như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1). Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thế là axit amin phân cực, ví dụ, H, N, Q,

S, T, A, hoặc Y. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thể là H, N, Q, S, T, hoặc Y. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thể là S hoặc Q. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thể là Q. Theo một số khía cạnh của sáng chế, sự loại bỏ axit amin là ở vị trí 423 nêu trong SEQ ID NO:5.

Theo một số khía cạnh của sáng chế, polypeptit ANGPTL3 kháng proteaza theo sự bộc lộ chứa axit amin liền kề tương ứng với các vùng axit amin: các axit amin 241-455 nêu trong SEQ ID NO:6; các axit amin 233-455 nêu trong SEQ ID NO:6; các axit amin 228-455 nêu trong SEQ ID NO:6, hoặc các axit amin 225-455 nêu trong SEQ ID NO:6, trong đó axit amin được thế đối với R hoặc K hoặc có sự loại bỏ R hoặc K. Theo một số khía cạnh của sáng chế, sự thay thế hoặc sự loại bỏ là ở vị trí 422 nêu trong SEQ ID NO:6 (mà là vị trí 423 như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1). Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thể là axit amin phân cực, ví dụ, H, N, Q, S, T, A, hoặc Y. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thể là H, N, Q, S, T, hoặc Y. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thể là S hoặc Q. Theo một số khía cạnh của sáng chế, phần tử thể là Q. Theo một số phương án, có sự loại bỏ ở vị trí 422 nêu trong SEQ ID NO:6.

Protein ANGPTL3 theo sáng chế như được mô tả ở trên có thể bao gồm các trình tự protein ANGPTL3 tự nhiên chặn các vùng đã được mô tả ở trên. Theo cách khác, theo một số phương án, protein ANGPTL3 theo sáng chế có thể bao gồm các trình tự chặn của protein ANGPTL3 không tự nhiên. Ví dụ, phần có hoạt tính tạo sụn của protein ANGPTL3 có thể được dung hợp với một hoặc nhiều đối tác dung hợp và/hoặc axit amin khác loại để tạo ra protein dung hợp. Các trình tự đối tác dung hợp có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, đuôi axit amin, axit amin không -L (ví dụ, D-) hoặc các chất giả axit amin khác để kéo dài chu kỳ bán rã in vivo và/hoặc tính kháng proteaza, trình tự nhắm đích hoặc các trình tự khác.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế được PEGyl hóa. Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế được dung hợp với peptit khác loại. Theo các phương án nhất định, polypeptit được dung hợp với loại bất kỳ trong số albumin huyết thanh của người (HSA), vùng cố định trên chuỗi nặng của globulin miễn dịch (Fc), polyhistidin, glutathion S transferaza (GST), thioredoxin, protein A, protein G, protein gắn kết maltoza (MBP), hoặc mảnh (các mảnh) polypeptit khác loại bất kỳ nêu trên.

Theo các phương án cụ thể, polypeptit khác loại được dung hợp ở đầu amino của polypeptit theo sáng chế. Theo các phương án bổ sung hoặc các phương án khác, polypeptit khác loại được dung hợp ở đầu carboxy của polypeptit theo sáng chế.

Protein ANGPTL3 theo sáng chế có hoạt tính tạo sụn và kháng proteaza. Như được xác định ở đây, sự tạo sụn hoặc hoạt tính tạo sụn dùng để chỉ sự phát triển của tế bào sụn từ MSC. Chỉ thị về hoạt tính tạo sụn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sự tạo chất nền sụn. Sự tạo chất nền sụn có thể được đo bằng các thang chuẩn khác nhau, ví dụ, chẳng hạn như Sox9, collagen loại II, hoặc sự tạo glycosaminoglycan (GAG). Theo một số phương án, sự tạo GAG được đo dưới dạng thang chuẩn cho sự tạo chất nền sụn. Theo một số phương án, việc tăng gấp 3 lần sự tạo GAG có sự biểu hiện của protein đặc hiệu của sụn cho thấy sự tạo chất nền sụn dương tính.

Polypeptit có thể được đánh giá đối với tính kháng proteaza bằng cách sử dụng thử nghiệm đã biết bất kỳ mà đo sự phân cắt bằng serin proteaza chẳng hạn như trypsin. Theo một số phương án, proteaza mà được dùng để đánh giá tính miễn cảm của sự phân giải protein là serin proteaza trypsin. Polypeptit được coi là kháng proteaza nếu nó giảm tính miễn cảm đối với trypsin khi được so sánh với bản sao kiểu đại của nó. Ví dụ về thử nghiệm là nhằm đo lượng sản phẩm phân cắt mà được tạo ra khi polypeptit được bộc lộ cho trypsin trong một khoảng thời gian khi so sánh với peptit của người tự nhiên tương ứng. Sự phân cắt có thể đo được bằng cách sử dụng thử nghiệm đã biết bất kỳ, ví dụ, SDS PAGE hoặc LCMS. Thử nghiệm có tính chất minh họa được nêu trong phần ví dụ thực hiện sáng chế.

Trong thử nghiệm có tính chất minh họa, sự phân giải protein hạn chế bằng phân giải protein bằng trypsin được thực hiện bằng cách ủ 10ng protein cần được đánh giá bằng trypsin ở tỷ lệ khối lượng 8000:1 (protein:trypsin) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Phản ứng phân giải protein bằng trypsin (trypsinolysis) sau đó có thể được tối ưu bằng cách bổ sung axit axetic để phản ứng đạt độ pH 3,0. Các mẫu tối ưu sau đó được tách phân tích bằng SDS-PAGE, ví dụ, trên gel Tris-Bis 4-12% để xác định protein mà kháng lại sự phân cắt từ các mẫu mà được phân cắt bằng sự có mặt của mảnh được tạo ra bằng sự phân cắt trypsin. Sản phẩm phân cắt không có mặt hoặc bị giảm ở polypeptit kháng proteaza khi so sánh với bản sao kiểu đại của chúng.

Theo một số khía cạnh của sáng chế, polypeptit ANGPTL3 theo sáng chế sẽ chứa ít nhất là một axit amin được mã hóa không có ngoài tự nhiên. Theo một số khía cạnh của sáng chế, polypeptit chứa 1, 2, 3, 4 axit amin không tự nhiên hoặc nhiều hơn. Các phương pháp tạo ra và đưa axit amin không có ngoài tự nhiên vào protein đã được biết. Xem, ví dụ, các bằng sáng chế Mỹ số US Patent Nos. 7,083,970; và 7,524,647. Nguyên tắc chung đối với sự tạo ra hệ thống dịch mã trực giao thích hợp để tạo ra protein chứa một hoặc nhiều axit amin không tự nhiên mong muốn đã được biết trong lĩnh vực này, như là các phương pháp chung để tạo ra hệ thống dịch mã trực giao. Ví dụ, xem các Công bố đơn quốc tế số WO 2002/086075, tên sáng chế “Methods and composition for the production of orthogonal tRNA-aminoacyl-tRNA synthetase pairs”; WO 2002/085923, tên sáng chế “In vivo incorporation of unnatural amino acids”; WO 2004/094593, tên sáng chế “Expanding the eukaryotic genetic code”; WO 2005/019415, nộp ngày 7/7/2004; WO 2005/007870, nộp ngày 7/7/2004; WO 2005/007624, nộp ngày 7/7/2004; WO 2006/110182, nộp ngày 27/10/2005, tên sáng chế “Orthogonal translation components for the vivo incorporation of unnatural amino acids”; và WO 2007/103490, nộp ngày 7/3/2007, tên sáng chế “Systems for the expression of orthogonal translation components in eubacterial host cells”. Để hiểu thêm về các hệ thống dịch mã trực giao là các hệ thống kết hợp axit amin không tự nhiên và phương pháp tạo ra và sử dụng các hệ thống này, cũng xem, Wang và Schultz, (2005) "Expanding the Genetic Code." *Angewandte Chemie Int Ed* 44: 34-66; Xie và Schultz, (2005) "An Expanding Genetic Code." *Methods* 36: 227-238; Xie và Schultz, (2005) "Adding Axit amin to the Genetic Repertoire." *Curr Opin in Chemical Biology* 9: 548-554; và Wang, et al., (2006) "Expanding the Genetic Code." *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 35: 225-249; Deiters, et al, (2005) "In vivo incorporation of an alkyne into proteins in *Escherichia coli*." *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 15:1521-1524; Chin, et al., (2002) "Addition of p-Azido-L-phenylalanin to the Genetic Code of *Escherichia coli*." *J Am Chem Soc* 124: 9026-9027; và Công bố đơn quốc tế số WO2006/034332, nộp ngày 20/09/2005. Thông tin chi tiết bổ sung được tìm thấy trong bằng sáng chế U.S. Pat. No. 7,045,337; No. 7,083,970; No. 7,238,510; No. 7,129,333; No. 7,262,040; No. 7,183,082; No. 7,199,222; và No. 7,217,809.

"Axit amin được mã hóa không có ngoài tự nhiên" dùng để chỉ axit amin mà không phải là một axit amin trong số các axit amin thông thường hoặc không phải là pyrolysin, pyrolin-carboxy-lysin, hoặc selenoxystein. Các thuật ngữ khác có thể được sử dụng gần nghĩa với thuật ngữ "axit amin được mã hóa không có ngoài tự nhiên" là "axit amin không thuộc tự nhiên," "axit amin không tự nhiên," "axit amin không có ngoài tự nhiên," và các biến thể có dấu gạch ngang và các biến thể không có dấu gạch ngang của nó. Thuật ngữ "axit amin được mã hóa không có ngoài tự nhiên" cũng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit amin xuất hiện bằng cách cải biến (ví dụ sự cải biến sau dịch mã) axit amin được mã hóa có ngoài tự nhiên (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 20 axit amin thông thường hoặc pyrolysin, pyrolin-carboxy-lysin và selenoxystein) nhưng bản thân chúng ngoài tự nhiên không được kết hợp vào chuỗi polypeptit đang dài ra bởi phức hợp dịch mã. Ví dụ về axit amin không có ngoài tự nhiên như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, N-acetylglucosaminyl-L-serin, N-acetylglucosaminyl-L-threonin và O-phosphotyrosin.

Axit amin được mã hóa không có ngoài tự nhiên thường là cấu trúc bất kỳ có chuỗi bên được thể bất kỳ ngoại trừ một cấu trúc được sử dụng trong hai mươi axit amin tự nhiên. Bởi vì axit amin được mã hóa không có ngoài tự nhiên theo sự bộc lộ thường khác so với axit amin tự nhiên chỉ ở cấu trúc của chuỗi bên, axit amin được mã hóa không có ngoài tự nhiên tạo ra các liên kết amit với axit amin khác, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các axit amin tự nhiên hoặc axit amin được mã hóa không có ngoài tự nhiên, theo cách tương tự trong đó chúng được tạo ra trong polypeptit có ngoài tự nhiên. Tuy nhiên, axit amin được mã hóa không có ngoài tự nhiên có các nhóm chuỗi bên mà phân biệt chúng với axit amin tự nhiên. Ví dụ, R tùy ý chứa nhóm alkyl-, aryl-, axyl-, keto-, azido-, hydroxyl-, hydrazin, xyano-, halo-, hydrazit, alkenyl, alkynl, ete, thiol, seleno-, sulfonyl-, borat, boronat, phospho, phosphono, phosphin, dị vòng, enon, imin, aldehyt, este, thioaxit, hydroxylamin, amino, hoặc nhóm tương tự hoặc tổ hợp bất kỳ của nó. Các axit amin không có ngoài tự nhiên được quan tâm khác mà có thể thích hợp để sử dụng trong sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit amin chứa liên kết ngang có hoạt tính quang học, axit amin đánh dấu spin, axit amin huỳnh quang, axit amin gắn kết kim loại, axit amin chứa kim loại, axit amin có hoạt tính phóng xạ, axit amin có nhóm chức mới, axit amin mà tương tác cùng hóa trị hoặc không cùng hóa trị với phân tử khác, axit amin hấp thụ quang và/hoặc axit amin dị

cấu quang học, axit amin chứa biotin hoặc chất tương tự biotin, axit amin được glycosyl hóa chẳng hạn như serin được thể bằng đường, axit amin được cải biến hydratcacbon khác, axit amin chứa keto, axit amin chứa polyetylen glycol hoặc polyete, axit amin được thể nguyên tử nặng, axit amin phân cắt bằng hóa học và/hoặc axit amin phân cắt bằng quang học, axit amin có chuỗi bên dài khi được so sánh với axit amin tự nhiên, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các polyete hoặc các hydrocacbon chuỗi dài, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit amin có nhiều hơn khoảng 5 cacbon hoặc nhiều hơn khoảng 10 cacbon, axit amin chứa đường liên kết cacbon, axit amin hoạt tính redox, axit amin chứa amino thioaxit và axit amin chứa một hoặc nhiều gốc có tính độc.

Các axit amin được mã hóa không có ngoài tự nhiên mà có thể thích hợp để sử dụng trong sáng chế và hữu ích đối với các phản ứng có polyme tan trong nước bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các axit amin có các nhóm phản ứng carbonyl, aminooxy, hydrazin, hydrazit, semicarbazit, azit và alkyn. Theo một số phương án, axit amin được mã hóa không có ngoài tự nhiên chứa gốc sacarit. Ví dụ về các axit amin này bao gồm N-axetyl-L-glucosaminyl-L-serin, N-axetyl-L-galactosaminyl-L-serin, N-axetyl-L-glucosaminyl-L-threonin, N-axetyl-L-glucosaminyl-L-asparagin và O-mannosaminyl-L-serin. Ví dụ về các axit amin như vậy cũng bao gồm các ví dụ trong đó liên kết N- hoặc O- có ngoài tự nhiên giữa axit amin và sacarit được thay thế bằng liên kết đồng hóa trị thường không được tìm thấy ngoài tự nhiên bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, alken, oxim, thioete, amit và hợp chất tương tự. Ví dụ về các axit amin như vậy cũng bao gồm các sacarit mà thường không được tìm thấy ở các protein có ngoài tự nhiên chẳng hạn như 2-deoxy-glucoza, 2-deoxygalactoza và hợp chất tương tự.

Một loại biến thể khác mà có thể tùy ý được đưa vào protein ANGPTL3 theo sáng chế (ví dụ trong chuỗi polypeptit hoặc ở đầu tận cùng N- hoặc đầu tận cùng C-), ví dụ, để kéo dài chu kỳ bán rã in vivo, là sự PEG hóa hoặc sự hợp nhất polyme polyetylen glycol chuỗi dài (PEG). Việc đưa PEG hoặc polyme chuỗi dài của PEG vào làm tăng trọng lượng phân tử có hiệu quả của polypeptit hiện tại, ví dụ, để phòng ngừa sự ngấm nhanh vào nước tiểu. Theo một số phương án, gốc lysin trong trình tự ANGPTL3 được tiếp hợp với PEG trực tiếp hoặc qua cầu nối. Cầu nối này có thể là, ví dụ, gốc Glu hoặc gốc axyl chứa nhóm chức thiol cho việc liên kết với chuỗi PEG được

cải biến thích hợp. Phương pháp khác để tiếp hợp chuỗi PEG là đầu tiên đưa gốc Cys ở đầu tận cùng C- hoặc ở các gốc bậc lộ dung môi chẳng hạn như sự thay thế đối với các gốc Arg hoặc Lys. Gốc Cys này sau đó được gắn đặc hiệu vị trí với chuỗi PEG chứa, ví dụ, nhóm chức maleimide. Các phương pháp kết hợp PEG hoặc polyme chuỗi dài của PEG đã được biết rõ trong lĩnh vực này (đã được mô tả, ví dụ, trong Veronese, F. M., et al., *Drug Disc. Today* 10: 1451-8 (2005); Greenwald, R. B., et al., *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55: 217-50 (2003); Roberts, M. J., et al., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54: 459-76 (2002)), nội dung được kết hợp ở đây bằng sự tham chiếu. Các phương pháp khác về tiếp hợp polyme đã được biết trong lĩnh vực này cũng có thể được sử dụng trong sáng chế. Theo một số phương án, poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholin) (PMPC) được đưa vào dưới dạng thể tiếp hợp polyme với protein ANGPTL3 theo sáng chế (xem, ví dụ, WO2008/098930; Lewis, et al., *Bioconjug Chem.*, 19: 2144-55 (2008)). Theo một số phương án, thể tiếp hợp polyme chứa phosphorylcholin với protein ANGPTL3 có thể được sử dụng trong sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ dễ dàng nhận thấy rằng các thể tiếp hợp polyme tương hợp sinh học khác có thể được sử dụng.

Phương pháp tiếp cận khác được báo cáo gần đây hơn để kết hợp PEG hoặc polyme PEG qua sự kết hợp của các axit amin không thuộc tự nhiên (như được mô tả ở trên) có thể được thực hiện bằng polypeptit hiện tại. Phương pháp tiếp cận này sử dụng cặp tARN/tARN syntetaza tiến triển và được mã hóa trong plasmit biểu hiện bởi codon kìm hãm hồ phách (Deiters, A., et al. (2004). *Bio-org. Med. Chem. Lett.* 14, 5743-5). Ví dụ, p-azidophenylalanine có thể được kết hợp vào polypeptit hiện tại và sau đó phản ứng với polyme PEG có gốc axetylen khi có chất khử và ion đồng để tạo thuận lợi cho phản ứng hữu cơ đã biết là "Huisgen [3+2]xycloaddition."

Theo các khía cạnh nhất định, bản mô tả cũng dự tính các đột biến đặc hiệu của protein ANGPTL3 để thay đổi sự glycosyl hóa của polypeptit này. Các đột biến như vậy có thể được chọn để đưa vào hoặc loại bỏ một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vị trí glycosyl hóa liên kết O- hoặc liên kết N-. Theo các khía cạnh nhất định, protein ANGPTL3 theo sáng chế có vị trí và các mô hình glycosyl hóa không thay đổi so với protein ANGPTL3 có ngoài tự nhiên. Theo các khía cạnh nhất định của sáng chế, biến thể của protein ANGPTL3 bao gồm biến thể glycosyl hóa, trong đó số lượng và/hoặc loại vị trí glycosyl hóa thay đổi so với

protein ANGPTL3 có ngoài tự nhiên. Theo các khía cạnh nhất định của sáng chế, biến thể của polypeptit bao gồm số lượng nhiều hơn hoặc ít hơn các vị trí glycosyl hóa liên kết N- so với polypeptit tự nhiên. Vị trí glycosyl hóa liên kết N- được đặc trưng bởi trình tự: Asn-X-Ser hoặc Asn-X-Thr, trong đó gốc axit amin được chọn là X có thể là gốc axit amin bất kỳ ngoại trừ prolin. Sự thay thế gốc axit amin để tạo ra trình tự này tạo ra vị trí mới tiềm năng cho sự bổ sung chuỗi hydratcacbon liên kết N-. Theo cách khác, sự thay thế mà loại bỏ trình tự này sẽ loại bỏ chuỗi hydratcacbon liên kết N- hiện có. Theo các khía cạnh nhất định của sáng chế, sự sắp xếp lại chuỗi hydratcacbon liên kết N- được đề xuất, trong đó một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa liên kết N- (thường các vị trí mà có ngoài tự nhiên) bị loại bỏ và một hoặc nhiều vị trí liên kết N- mới được tạo ra.

Các biến thể protein ANGPTL3 làm ví dụ minh họa bao gồm biến thể xystein trong đó một hoặc nhiều gốc xystein bị loại bỏ hoặc được thế cho axit amin khác (ví dụ, serin) so với trình tự axit amin của protein ANGPTL3 có ngoài tự nhiên. Theo các khía cạnh nhất định của sáng chế, biến thể xystein có thể hữu ích khi protein ANGPTL3 phải được gấp nếp vào cấu hình có hoạt tính sinh học chẳng hạn như sau khi phân lập thể vùi không tan. Theo các khía cạnh nhất định của sáng chế, biến thể xystein có ít gốc xystein hơn so với polypeptit tự nhiên. Theo các khía cạnh nhất định của sáng chế, biến thể xystein có số lượng chặn các gốc xystein để giảm thiểu sự tương tác do xystein không được tạo cặp.

Theo một số phương án, biến thể chức năng hoặc dạng được cải biến của protein ANGPTL3 bao gồm protein dung hợp của protein ANGPTL3 theo sáng chế và một hoặc nhiều miền dung hợp. Ví dụ đã được biết rõ về miền dung hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, polyhistidin, Glu-Glu, glutathion S transferaza (GST), thioredoxin, protein A, protein G, vùng cố định trên chuỗi nặng của globulin miễn dịch (Fc), protein gắn kết maltoza (MBP), và/hoặc albumin huyết thanh của người (HSA). Miền dung hợp hoặc mảnh của nó có thể được chọn để truyền đặc tính mong muốn. Ví dụ, một số miền dung hợp đặc biệt hữu ích cho sự phân lập protein dung hợp bằng sắc ký ái lực. Dành cho mục đích tinh sạch bằng ái lực, các chất nền thích hợp cho sắc ký ái lực, chẳng hạn như các nhựa tiếp hợp glutathion-, amylaza- và niken- hoặc coban- được sử dụng. Nhiều trong số các chất nền như vậy sẵn có ở dạng “kit”, chẳng hạn như hệ tinh sạch Pharmacia GST và hệ QLAexpressTM (Qiagen) mà hữu dụng với các đối

tác dung hợp (HIS₆). Dưới dạng ví dụ khác, miền dung hợp có thể được chọn để tạo thuận lợi cho sự phát hiện protein ANGPTL3. Ví dụ về các miền phát hiện như vậy bao gồm các protein phát huỳnh quang khác nhau (ví dụ, GFP) cũng như "thể epitop" mà thường là các trình tự peptit ngắn mà kháng thể đặc hiệu sẵn có. Thể epitop đã được biết rõ đối với kháng thể đơn dòng đặc hiệu sẵn có dễ dàng bao gồm FLAG, haemagglutinin của virus gây cúm (HA) và thể c-myc. Trong một số trường hợp, miền dung hợp này có vị trí phân cắt proteaza, chẳng hạn như đối với yếu tố Xa hoặc Thrombin, mà cho phép proteaza thích hợp để cắt giới hạn từng phần protein dung hợp và nhờ đó giải phóng protein tái tổ hợp từ đó. Protein được giải phóng sau đó có thể phân lập được từ miền dung hợp bằng phương pháp phân tách bằng sắc ký tiếp theo. Theo các phương án nhất định, protein ANGPTL3 được dung hợp với miền mà làm ổn định protein ANGPTL3 in vivo (miền "ổn định"). Thuật ngữ "làm ổn định" có nghĩa là bất kỳ quá trình nào mà làm tăng chu kỳ bán rã trong huyết thanh, bất kể là liệu quá trình này có phải do sự phá vỡ giảm, độ thanh thải bởi thận giảm, hoặc tác động được động học khác. Sự dung hợp với phần Fc của globulin miễn dịch đã được biết là để truyền đặc tính được động học mong muốn cho một phổ rộng các protein. Tương tự, sự dung hợp với albumin huyết thanh của người có thể tạo ra đặc tính mong muốn. Các loại miền dung hợp khác mà có thể được chọn bao gồm các miền multimer hóa (ví dụ, dimer hóa, tetramer hóa) và các miền chức năng (mà tạo ra chức năng sinh học bổ sung, như mong muốn). Thể dung hợp có thể được tạo cấu trúc sao cho peptit khác loại được dung hợp ở đầu amino của polypeptit theo sáng chế và/hoặc ở đầu carboxy của polypeptit theo sáng chế.

Axit nucleic mã hóa polypeptit tương tự angiopoietin- 3 kháng proteaza

Sáng chế cũng mô tả axit nucleic mã hóa polypeptit kháng proteaza theo sáng chế và vector biểu hiện và tế bào chủ để biểu hiện polypeptit kháng proteaza. Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả polynucleotit mã hóa polypeptit theo sáng chế và vector biểu hiện và tế bào chủ chứa polynucleotit như vậy. Theo một số khía cạnh của sáng chế, polynucleotit này được tối ưu hóa để biểu hiện ở tế bào chủ. Theo một số khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp cải thiện hoặc ngăn ngừa bệnh viêm khớp hoặc chấn thương khớp ở người bệnh, phương pháp này bao gồm: dùng cho khớp của người bệnh vector biểu hiện mã hóa polypeptit theo sáng chế và thể là sự biểu hiện của polypeptit này cải thiện hoặc ngăn ngừa bệnh viêm khớp hoặc chấn thương khớp ở người bệnh.

Theo một số khía cạnh của sáng chế, người bệnh bị viêm khớp hoặc chấn thương khớp. Theo một số khía cạnh của sáng chế, cá thể này không bị, nhưng có nguy cơ bị viêm khớp hoặc chấn thương khớp. Theo một số khía cạnh của sáng chế, bệnh viêm khớp là viêm xương khớp, viêm khớp do chấn thương, hoặc viêm khớp tự miễn.

Sự biểu hiện polypeptit theo sáng chế sử dụng các kỹ thuật thông thường trong lĩnh vực di truyền tái tổ hợp. Các ấn phẩm bộc lộ các phương pháp sử dụng chung trong sáng chế bao gồm Sambrook và Russell eds. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edition; chuỗi Ausubel et al. eds. (2007 được cập nhật đến 2010) *Current Protocols in Molecular Biology*, trong số các ấn phẩm khác đã được biết trong lĩnh vực này.

Sự biểu hiện có thể sử dụng tế bào chủ thích hợp bất kỳ đã được biết trong lĩnh vực này, ví dụ, tế bào chủ động vật có vú, tế bào chủ vi khuẩn, tế bào chủ nấm men, tế bào chủ côn trùng, v.v... Cả hai hệ biểu hiện nhân sơ và nhân thật sẵn có một cách rộng rãi. Theo một số phương án, hệ biểu hiện này là hệ biểu hiện ở tế bào động vật có vú, chẳng hạn như hệ biểu hiện ở tế bào CHO. Theo một số phương án, axit nucleic có thể được tối ưu hóa codon để tạo thuận lợi cho sự biểu hiện ở tế bào chủ mong muốn.

Vector và hệ không phải của virus bao gồm plasmit và vector episom, thường chứa caset biểu hiện để biểu hiện protein hoặc ARN và nhiễm sắc thể nhân tạo của người (xem, ví dụ, Harrington et al., *Nat Genet* 15:345, 1997). Ví dụ, vector không phải của virus mà hữu dụng để biểu hiện polypeptit theo sáng chế ở tế bào động vật có vú (ví dụ, của người) bao gồm các vector pThioHis A, B & C, pcDNA3. I/His, pEBVHis A, B & C (Invitrogen, San Diego, CA), MPSV và nhiều vector khác đã biết trong lĩnh vực này để biểu hiện các protein khác. Các vector của virus hữu dụng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vector dựa vào adenovirus, virus liên quan đến adeno, virus herpes, vector dựa vào SV40, virus gây bệnh u nhú, virus HBP Epstein Barr, vector gây bệnh đậu gà, vector virus gây bệnh đậu mùa và virus Semliki Forest (SFV).

Việc lựa chọn vector biểu hiện tùy thuộc vào tế bào chủ dự định trong đó vector cần được biểu hiện. Thông thường, vector biểu hiện chứa promotor và các trình tự điều hòa khác (ví dụ, trình tự tăng cường) mà gắn kết linh hoạt với polynucleotit mã hóa polypeptit theo sáng chế. Theo một số khía cạnh của sáng chế, promotor cảm ứng được

sử dụng để ngăn ngừa biểu hiện của trình tự được chèn vào ngoại trừ trong điều kiện cảm ứng. Các promotor cảm ứng bao gồm, ví dụ, promotor arabinoza, promotor lacZ, promotor metallothionein, promotor glucocorticoid hoặc promotor sốc nhiệt. Ngoài ra, các yếu tố điều hòa khác cũng có thể được kết hợp vào để cải thiện sự biểu hiện axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế, ví dụ, trình tự tăng cường, trình tự của vị trí gắn kết ribosom, trình tự kết thúc phiên mã và tương tự.

Theo một số khía cạnh của sáng chế, axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế cũng có thể bao gồm trình tự mã hóa trình tự tín hiệu tiết sao cho polypeptit này được tiết ra từ tế bào chủ. Trình tự như vậy có thể được tạo ra bởi vector, hoặc dưới dạng một phần của axit nucleic ANGPTL3 mà có mặt trong vector này.

Các phương pháp đưa vector biểu hiện chứa trình tự polynucleotit quan tâm thay đổi tùy thuộc vào loại vật chủ. Ví dụ, sự chuyển nạp canxi clorua thường được sử dụng cho tế bào nhân sơ, trong khi việc xử lý bằng canxi phosphat hoặc xung điện có thể được sử dụng cho các vật chủ khác (thường xem, Sambrook et al., supra). Các phương pháp khác bao gồm, ví dụ, xung điện, xử lý bằng canxi phosphat, biến nạp qua liposom, tiêm và vi tiêm, phương pháp súng bắn gen, virosom, liposom miễn dịch, đa cation: thể tiếp hợp axit nucleic, ADN trần, virion nhân tạo, dung hợp protein cấu trúc VP22 của virus herpes, sự hấp thu ADN tăng cường bởi tác nhân và tải nạp ex vivo. Đối với sự tạo ra protein tái tổ hợp hiệu suất cao, lâu dài, sự biểu hiện ổn định sẽ thường được mong muốn. Ví dụ, dòng tế bào biểu hiện ổn định polypeptit theo sáng chế có thể được tạo ra bằng cách sử dụng vector biểu hiện theo sáng chế chứa bản sao có nguồn gốc virus hoặc yếu tố biểu hiện nội sinh và gen chỉ thị chọn lọc.

Theo một số khía cạnh của sáng chế, axit nucleic mã hóa polypeptit ANGPTL3 kháng proteaza theo sáng chế có thể được phân phối đến người bệnh cho việc điều trị chấn thương hoặc bệnh khớp. Sự phân phối axit nucleic như vậy có thể đạt được bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này, nhưng thường được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp tiêm trực tiếp vào khớp bị bệnh hoặc bị chấn thương. Theo một số khía cạnh của sáng chế, ADN được phân phối dưới dạng ADN trần bằng cách sử dụng phương pháp tiêm trực tiếp vào khớp. Theo một số khía cạnh của sáng chế, vector virus được sử dụng, bao gồm, nhưng không chỉ

giới hạn ở, vector adenovirut hoặc vector có liên quan đến adenovirut, vector virut herpes, vector virut gây bệnh đậu gà, hoặc vector virut gây bệnh đậu mùa.

Phương pháp sử dụng trị liệu của polypeptit và chỉ định

Các phương pháp được đề xuất theo sáng chế bao gồm được phẩm chứa polypeptit theo sáng chế để sử dụng trong điều trị bệnh cho đối tượng bao gồm việc cho đối tượng dùng lượng có hiệu quả điều trị bệnh của polypeptit theo sáng chế, trong đó đối tượng bị hoặc có nguy cơ bị tổn thương khớp hoặc viêm khớp. Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa polypeptit theo sáng chế để sử dụng trong cải thiện hoặc ngăn ngừa bệnh viêm khớp hoặc chấn thương khớp ở người bệnh, việc sử dụng này bao gồm: dùng cho khớp của người bệnh chế phẩm chứa lượng hiệu quả của polypeptit theo sáng chế, nhờ đó cải thiện hoặc ngăn ngừa bệnh viêm khớp hoặc chấn thương khớp ở người bệnh. Theo một số phương án, người bệnh bị viêm khớp hoặc chấn thương khớp. Theo một số phương án, cá thể này không bị, nhưng có nguy cơ bị bệnh viêm khớp hoặc chấn thương khớp. Theo một số phương án, bệnh viêm khớp là viêm xương khớp, viêm khớp do chấn thương, hoặc viêm khớp tự miễn. Theo một số phương án, chế phẩm được dùng cho người bệnh còn chứa axit hyaluronic.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp cảm ứng sự biệt hóa của tế bào gốc trung mô thành tế bào sụn, phương pháp này bao gồm, cho tế bào gốc trung mô tiếp xúc với lượng đủ của polypeptit theo sáng chế để cảm ứng sự biệt hóa của tế bào gốc này thành tế bào sụn. Theo một số phương án, phương pháp này được thực hiện in vivo và tế bào gốc có ở người bệnh.

Người ta dự tính rằng polypeptit, chế phẩm và sử dụng theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị, cải thiện hoặc ngăn ngừa loại tổn thương sụn khớp bất kỳ (ví dụ, tổn thương hoặc chấn thương khớp) bao gồm, ví dụ, tổn thương do chấn thương hoặc đứt gân hoặc đứt dây chằng. Theo một số phương án, protein theo sáng chế được dùng để ngăn ngừa hoặc cải thiện bệnh viêm khớp hoặc tổn thương khớp, ví dụ trong trường hợp có tiền sử di truyền hoặc tiền sử gia đình về bệnh viêm khớp hoặc tổn thương khớp hoặc chấn thương khớp hoặc trước hoặc trong khi phẫu thuật khớp. Theo một số phương án, polypeptit và chế phẩm được sử dụng để điều trị tổn thương khớp. Theo các phương án cụ thể, tổn thương khớp là tổn thương khớp do chấn thương. Theo phương án khác, tổn thương khớp là tổn thương do tuổi tác hoặc sự không hoạt động.

Cũng theo phương án khác, tổn thương khớp là tổn thương do rối loạn tự miễn. Theo một số phương án theo sáng chế, polypeptit và chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị, cải thiện hoặc ngăn ngừa viêm xương khớp. Theo một số phương án, polypeptit và chế phẩm này được sử dụng để cải thiện hoặc ngăn ngừa bệnh viêm khớp ở đối tượng có nguy cơ mắc hoặc mắc bệnh viêm khớp. Theo một số phương án, polypeptit và chế phẩm này được sử dụng để cải thiện hoặc ngăn ngừa tổn thương khớp ở đối tượng có nguy cơ mắc hoặc mắc bệnh tổn thương khớp.

Theo một số phương án, polypeptit và chế phẩm theo sáng chế được sử dụng trong phương pháp kích thích sự tăng sinh tế bào sụn và sự tạo sụn ở mô sụn đã bị tổn thương, ví dụ, do tổn thương do chấn thương hoặc bệnh sụn. Theo các phương án cụ thể, polypeptit và chế phẩm theo sáng chế là hữu dụng để điều trị tổn thương sụn ở khớp, ví dụ, ở các bề mặt có khớp, ví dụ, cột sống, vai, khuỷu, cổ tay, các khớp ngón, hông, đầu gối, cổ chân và khớp bàn chân. Ví dụ về bệnh hoặc rối loạn mà có thể thu được lợi ích từ việc điều trị bao gồm viêm xương khớp, viêm khớp dạng thấp, các bệnh tự miễn khác, hoặc bệnh viêm xương sụn bóc tách. Ngoài ra, tổn thương sụn hoặc vỡ sụn xảy ra như là kết quả các rối loạn di truyền hoặc rối loạn chuyển hóa nhất định, dị dạng sụn thường được thấy ở dạng chứng lùn ở người, và/hoặc tổn thương sụn hoặc vỡ sụn thường là kết quả của phẫu thuật phục hồi; do đó polypeptit, chế phẩm và phương pháp sẽ là liệu pháp hữu dụng ở các bệnh nhân này, hoặc dùng riêng lẻ hoặc kết hợp với các liệu pháp khác.

Người ta còn dự tính rằng polypeptit và chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị, cải thiện hoặc ngăn ngừa các rối loạn và/hoặc triệu chứng liên quan đến sụn hoặc ảnh hưởng của các tình trạng bệnh như vậy. Tình trạng hoặc rối loạn cho sự điều trị, việc làm thuyên giảm và/hoặc ngăn ngừa bằng polypeptit và chế phẩm theo sáng chế làm ví dụ minh họa, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh luput ban đỏ hệ thống, viêm khớp dạng thấp, viêm khớp mạn tính thiếu niên, viêm xương khớp, bệnh thoái hóa đĩa đệm, bệnh viêm đốt sống, hội chứng Ehlers Danlos, bệnh xơ cứng toàn thân (xơ cứng bì) hoặc bệnh gân. Các tình trạng hoặc rối loạn khác mà có thể thu được lợi ích từ việc điều trị bằng polypeptit để cải thiện các tác động có liên quan bao gồm bệnh teo cơ do viêm tự phát (viêm da cơ, bệnh viêm đa cơ), hội chứng Sjogren, viêm mạch hệ thống, bệnh sarcoid, bệnh thiếu máu tan huyết tự miễn (bệnh rối loạn sinh tủy liên quan đến miễn dịch, hemoglobin niệu kịch phát về đêm),

bệnh giảm tiểu cầu tự miễn (bệnh xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn, bệnh giảm tiểu cầu do miễn dịch), bệnh viêm tuyến giáp (bệnh Grave, bệnh viêm tuyến giáp Hashimoto, viêm giáp lympho bào tuổi thiếu niên, bệnh teo tuyến giáp), bệnh đái tháo đường, bệnh thận liên quan đến miễn dịch (bệnh viêm thận tiểu cầu, viêm ống và mô thận khe), các bệnh hủy myelin của hệ thần kinh trung ương và hệ thần kinh ngoại vi chẳng hạn như bệnh đa xơ cứng, bệnh đa dây thần kinh hủy myelin tự phát hoặc hội chứng Guillain-Barr và bệnh đa dây thần kinh hủy myelin do viêm mạn tính, các bệnh gan mật chẳng hạn như viêm gan nhiễm trùng (viêm gan A, B, C, D, E và các bệnh không do virus hepatotropic), viêm gan mạn tính hoạt động tự miễn, bệnh xơ ống mật nguyên phát, bệnh viêm gan u hạt và bệnh sung ống gan xơ hóa, bệnh viêm ruột (bệnh viêm ruột kết gây loét: bệnh Crohn), bệnh ruột mẫn cảm gluten và bệnh Whipple, các bệnh da tự miễn hoặc liên quan đến miễn dịch bao gồm bệnh da bị bong rộp, bệnh hồng ban đa dạng và chàm tiếp xúc, bệnh vẩy nến, các bệnh dị ứng chẳng hạn như hen, viêm mũi dị ứng, viêm da dị ứng, dị ứng thức ăn và chứng mày đay, các bệnh miễn dịch của phổi chẳng hạn như bệnh viêm phổi tăng eosin, bệnh xơ hóa phổi tự phát và bệnh phổi tăng mẫn cảm, các bệnh liên quan đến cấy ghép bao gồm bệnh thải loại mảnh ghép và bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ.

“Bệnh nhân” như được sử dụng ở đây dùng để chỉ đối tượng bất kỳ mà được dùng polypeptit trị liệu theo sáng chế. Người ta dự tính rằng polypeptit và chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng trong điều trị bệnh cho động vật có vú. Như được sử dụng ở đây “đối tượng” dùng để chỉ động vật có vú bất kỳ, bao gồm người, vật nuôi trong nhà và vật nuôi ngoài trang trại và động vật ngoài vườn thú, động vật thể thao và động vật được thuần hóa, chẳng hạn như gia súc (ví dụ bò), ngựa, chó, cừu, lợn, thỏ, dê, mèo v.v.. Theo một số phương án của sáng chế, đối tượng là người. Theo các phương án nhất định, đối tượng là ngựa. Theo các phương án khác, đối tượng là chó.

Theo một số phương án, polypeptit theo sáng chế có thể là khác loại đối với động vật có vú cần được điều trị bệnh. Ví dụ, protein ANGPTL3 của người theo sáng chế được sử dụng trong điều trị bệnh cho động vật chẳng hạn như ngựa, bò hoặc chó. Theo một số phương án, protein ANGPTL3 khác loại theo sáng chế có thể được sử dụng để làm tăng số lượng tế bào sụn trong nuôi cấy để cấy ghép. Theo một số khía cạnh của sáng chế, các môi trường nuôi cấy được làm giàu sau đó tùy ý sẽ được trộn với polypeptit và chế phẩm mà tương ứng với động vật có vú cần được điều trị bệnh và

được đặt trong khoang khớp hoặc được đặt trực tiếp vào chỗ bị tổn thương của sụn. Polypeptit theo sáng chế được sử dụng trong điều trị bệnh viêm khớp hoặc tổn thương khớp cho người bệnh. Bằng cách sử dụng protein được tạo ra từ cùng loài động vật có vú dưới dạng được điều trị bệnh, đáp ứng miễn dịch không cố ý có thể được tránh xảy ra.

Theo một số phương án, polypeptit và chế phẩm theo sáng chế được dùng bằng cách tiêm trực tiếp vào hoạt dịch của khớp, dùng hệ thống (qua đường miệng hoặc tiêm tĩnh mạch) hoặc trực tiếp vào chỗ bị tổn thương của sụn, hoặc riêng lẻ hoặc kết hợp với chất mang thích hợp cho sự giải phóng kéo dài của protein. Theo một số phương án, polypeptit hoặc chế phẩm được dùng trong chất nền hoặc khung tương hợp sinh học. Polypeptit, chế phẩm và phương pháp theo sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp với quá trình phẫu thuật ở khớp bị hỏng. Việc dùng polypeptit theo sáng chế có thể xảy ra trước, trong hoặc kết hợp với, và/hoặc sau quá trình phẫu thuật. Ví dụ, polypeptit và chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để tăng lượng tế bào sụn trong môi trường nuôi cấy cho việc cấy ghép tế bào sụn tự thân hoặc khác loại (ACI). Tế bào sụn có thể tùy ý được cấy bằng sự điều trị đồng thời bao gồm việc dùng polypeptit và chế phẩm theo sáng chế. Trong các quy trình này, ví dụ, tế bào sụn có thể được thu hoạch bằng cách nội soi từ vùng chịu tải nhỏ không bị tổn thương của khớp bị tổn thương và có thể được nuôi cấy in vitro, tùy ý khi có polypeptit và chế phẩm theo sáng chế và/hoặc các yếu tố tăng trưởng khác để làm tăng số lượng tế bào trước khi cấy ghép. Giống nuôi cấy phát triển sau đó tùy ý được trộn với polypeptit và chế phẩm theo sáng chế và/hoặc được đặt vào khoang khớp hoặc trực tiếp vào chỗ bị tổn thương. Theo các phương án nhất định, giống nuôi cấy phát triển (tùy ý có polypeptit theo sáng chế) được đặt vào khoang khớp mà bị lơ lửng trong chất nền hoặc màng. Theo phương án khác, polypeptit và chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều mảnh ghép màng xương hoặc mảnh ghép màng sụn mà chứa tế bào tạo sụn và/hoặc giúp giữ tế bào sụn đã được cấy ghép hoặc các tế bào tiền thân của tế bào sụn tại chỗ. Theo một số phương án, polypeptit và chế phẩm theo sáng chế được sử dụng để phục hồi tổn thương sụn kết hợp với các quy trình khác, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, rửa khớp, kích thích tủy xương, mài bớt sụn, khoan dưới sụn, hoặc phẫu thuật nội soi tạo tổn thương dưới sụn gần. Tùy ý, sau khi dùng polypeptit và chế phẩm theo sáng chế và sau sự tăng trưởng của sụn, điều trị bằng

phẫu thuật bổ sung có thể thu được lợi ích đối với (các) bề mặt của sụn được tạo mới có viền thích hợp.

Dược phẩm

Chế phẩm điều trị bệnh chứa polypeptit mà đã được đề xuất nằm trong phạm vi của sáng chế và được dự định một cách cụ thể trong việc cân nhắc việc nhận diện một số trình tự polypeptit có tính ổn định và tính kháng proteaza tăng. Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa lượng có hiệu quả điều trị bệnh của polypeptit theo sáng chế. Theo các phương án nhất định, dược phẩm còn chứa chất mang được dụng hoặc chất mang sinh lý dụng. Theo một số phương án, dược phẩm còn chứa axit hyaluronic hoặc dẫn xuất của nó.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất polypeptit để sử dụng trong điều trị, cải thiện hoặc ngăn ngừa bệnh viêm khớp hoặc chấn thương khớp ở người bệnh, việc điều trị này bao gồm: dùng cho khớp của người bệnh chế phẩm chứa lượng hiệu quả của polypeptit theo sáng chế, nhờ đó cải thiện hoặc ngăn ngừa bệnh viêm khớp hoặc chấn thương khớp ở người bệnh. Theo một số phương án, người bệnh bị viêm khớp hoặc chấn thương khớp. Theo một số phương án, cá thể này không bị, nhưng có nguy cơ bị bệnh viêm khớp hoặc chấn thương khớp. Theo một số phương án, bệnh viêm khớp là viêm xương khớp, viêm khớp do chấn thương, hoặc viêm khớp tự miễn. Theo một số phương án, chế phẩm được dùng còn chứa axit hyaluronic.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit để sử dụng trong phương pháp cảm ứng sự biệt hóa của tế bào gốc trung mô thành tế bào sụn, phương pháp này bao gồm, cho tế bào gốc trung mô tiếp xúc với lượng đủ của polypeptit theo sáng chế để cảm ứng sự biệt hóa của tế bào gốc này thành tế bào sụn. Theo một số phương án, phương pháp này được thực hiện in vivo, tế bào gốc có ở người bệnh và việc cho tiếp xúc này bao gồm việc dùng cho khớp của người bệnh chế phẩm chứa lượng hiệu quả của polypeptit theo sáng chế, nhờ đó cảm ứng sự biệt hóa tế bào gốc thành tế bào sụn và cảm ứng sự tạo sụn.

Chế phẩm điều trị bệnh chứa axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế có thể được phân phối cho người bệnh để điều trị tổn thương khớp hoặc bệnh khớp. Theo một số khía cạnh của sáng chế, dược phẩm chứa ADN trần mã hóa polypeptit theo sáng chế. Theo một số khía cạnh của sáng chế, vector virus được sử dụng để thực hiện

việc phân phối và dược phẩm chứa vector mã hóa polypeptit theo sáng chế, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vector adenovirut hoặc vector có liên quan đến adenovirut, vector virut herpes, virut gây bệnh đậu gà, hoặc vector virut gây bệnh đậu mùa. Dược phẩm chứa lượng có hiệu quả điều trị bệnh của axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế cùng với chất mang dược dụng hoặc chất mang sinh lý dụng.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, polypeptit được đề xuất để dùng làm thuốc cho việc điều trị tổn thương khớp được dự tính. Theo các phương án nhất định, polypeptit theo sáng chế để dùng làm thuốc để cải thiện bệnh viêm khớp hoặc tổn thương khớp được đề xuất. Theo một số phương án, viêm khớp là viêm xương khớp, viêm khớp do chấn thương hoặc viêm khớp tự miễn. Theo một số phương án, tổn thương khớp là tổn thương khớp do chấn thương, tổn thương do tự miễn, tổn thương do tuổi già, hoặc tổn thương do không hoạt động. Theo khía cạnh khác của sáng chế, axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế để dùng làm thuốc được đề xuất.

Chế phẩm bào chế thích hợp để dùng bao gồm các tá dược, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dung dịch chứa nước và dung dịch không chứa nước, dung dịch vô trùng đẳng trương, mà có thể chứa chất chống oxi hóa, chất đệm, chất kìm hãm vi khuẩn và chất tan mà biểu hiện huyền phù đẳng trương, huyền phù vô trùng chứa nước và huyền phù vô trùng không chứa nước của chế phẩm mà có thể bao gồm chất tạo huyền phù, chất hòa tan, chất làm đặc, chất làm ổn định và chất bảo quản. Theo các phương án nhất định, dược phẩm chứa lượng có hiệu quả điều trị bệnh của peptit trong hỗn hợp với chất bào chế được dụng được chọn để thích hợp với đường dùng, dạng phân phối và liều lượng mong muốn. Xem, ví dụ, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th Ed., A.R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company 1990) và các ấn phẩm tiếp theo. Chất dẫn thuốc hoặc chất mang chủ yếu trong dược phẩm có thể có bản chất là chứa nước hoặc không chứa nước. Ví dụ, chất dẫn thuốc hoặc chất mang thích hợp cho việc tiêm có thể là nước, dung dịch muối sinh lý hoặc dịch não tủy nhân tạo, tùy ý được bổ sung các nguyên liệu khác mà là thông thường trong chế phẩm cho việc dùng qua đường ngoài đường tiêu hóa. Ví dụ, chất đệm có thể được sử dụng, ví dụ, để giữ chế phẩm ở độ pH sinh lý hoặc ở độ pH thấp hơn không đáng kể, thường trong khoảng từ độ pH 5 đến khoảng độ pH 8 và tùy ý có thể bao gồm sorbitol, albumin huyết thanh, chất làm sạch, hoặc thành phần bổ sung khác. Theo các phương án nhất định, dược phẩm chứa polypeptit hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit theo

sáng chế có thể được bào chế cho việc bảo quản ở dạng đông khô bằng cách sử dụng tá dược thích hợp (ví dụ, sucroza).

Cũng theo phương án khác, chế phẩm bào chế chứa chất, chẳng hạn như vi cầu tiêm được, tiểu phân ăn mòn sinh học, hợp chất polyme, hạt, hoặc liposom hoặc chất nền tương hợp sinh học mà tạo ra sự giải phóng có kiểm soát hoặc giải phóng chậm của polypeptit hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế sau đó có thể được phân phối qua việc tiêm chậm. Ví dụ, polypeptit hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế có thể được bao nang trong liposom, hoặc được bào chế dưới dạng vi hạt hoặc vi nang hoặc có thể được kết hợp vào các chất dẫn thuốc khác, chẳng hạn như polyme phân hủy sinh học, hydrogel, xyclodextrin (xem ví dụ Gonzalez et al., 1999, Bioconjugate Chem., 10, 1068-1074; Wang et al., các công bố đơn quốc tế PCT số. WO 03/47518 và WO 03/46185), axit poly(lactic-co-glycolic) (PLGA) và vi cầu PLGA (xem ví dụ U.S. Pat. No. 6,447,796 và công bố đơn sáng chế Mỹ số US 2002130430), viên nang nano phân hủy sinh học và vi cầu kết dính sinh học, hoặc bằng vectơ protein (O'Hare và Normand, công bố đơn quốc tế PCT số WO 00/53722) hoặc bằng việc sử dụng thể tiếp hợp. Các cơ chế phân phối thích hợp khác nữa bao gồm dụng cụ phân phối cấy ghép được.

Liều của hợp chất theo sáng chế để điều trị các bệnh hoặc rối loạn nêu trên thay đổi tùy thuộc vào cách dùng, độ tuổi, và/hoặc thể trọng của đối tượng và tình trạng bệnh của đối tượng cần được điều trị và cuối cùng sẽ được quyết định bởi thầy thuốc hoặc bác sỹ thú y điều trị. Liều được dùng cho đối tượng theo sáng chế nên là đủ để tạo đáp ứng có lợi ở đối tượng qua thời gian. Liều như vậy là “lượng có hiệu quả điều trị bệnh”. Do đó, liều thích hợp có thể được xác định bằng tính hiệu quả của protein cụ thể hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế được dùng và tình trạng bệnh của đối tượng, cũng như thể trọng hoặc diện tích bề mặt của vùng được điều trị. Kích thước liều cũng sẽ được quyết định bởi sự tồn tại, bản chất và mức độ của tác dụng phụ có hại bất kỳ mà đi kèm việc dùng protein hoặc vectơ cụ thể ở đối tượng cụ thể. Việc dùng có thể được tiến hành qua liều đơn hoặc liều được phân chia, hoặc dưới dạng truyền liên tục thông qua dụng cụ cấy ghép hoặc ống thông. Tần suất liều sẽ phụ thuộc vào thông số động học của polypeptit hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế trong chế phẩm bào chế được sử dụng. Thầy thuốc lâm sàng có thể chuẩn độ liều và/hoặc cải biến việc dùng để đạt hiệu quả điều trị bệnh mong

muốn. Liều điển hình nằm trong phạm vi từ khoảng 0,01µg/kg đến khoảng 100mg/kg, tùy thuộc vào các yếu tố. Theo các phương án nhất định, liều nằm trong phạm vi từ khoảng 0,1µg/kg đến khoảng 10mg/kg; hoặc khoảng 0,1µg/kg; khoảng 0,5µg/kg; khoảng 1µg/kg; khoảng 2µg/kg; khoảng 5µg/kg; khoảng 10µg/kg; khoảng 15µg/kg; khoảng 20µg/kg; khoảng 25µg/kg; khoảng 30µg/kg; khoảng 35µg/kg; khoảng 40µg/kg; khoảng 45µg/kg; khoảng 50µg/kg; khoảng 55µg/kg; khoảng 60µg/kg; khoảng 65µg/kg; khoảng 75µg/kg; khoảng 85µg/kg; khoảng 100µg/kg. Theo các phương án nhất định, liều là khoảng 50µg/kg; khoảng 100µg/kg; khoảng 150µg/kg; khoảng 200µg/kg; khoảng 250µg/kg; khoảng 300µg/kg; khoảng 350µg/kg; khoảng 400µg/kg; khoảng 450µg/kg; khoảng 500µg/kg; khoảng 550µg/kg; khoảng 600µg/kg; khoảng 650µg/kg; khoảng 700µg/kg; khoảng 750µg/kg; khoảng 800µg/kg; khoảng 850µg/kg; khoảng 900µg/kg; khoảng 950µg/kg; khoảng 1mg/kg; khoảng 2mg/kg; khoảng 3mg/kg; khoảng 4mg/kg; khoảng 5mg/kg; khoảng 6mg/kg; khoảng 7mg/kg; khoảng 8mg/kg; khoảng 9mg/kg; khoảng 10mg/kg.

Phương pháp dùng

Phương pháp bất kỳ để phân phối polypeptit theo sáng chế đến khớp bị hỏng có thể được sử dụng. Trong thực tiễn của sáng chế, chế phẩm có thể được dùng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ được tiêm, ví dụ, tiêm nội khớp (nghĩa là, vào trong khớp), tiêm tĩnh mạch, tiêm bắp, tiêm dưới da; tiêm truyền, hoặc cấy, ví dụ, trong màng, chất nền, dụng cụ v.v.. Khi được tiêm, truyền hoặc cấy, sự phân phối có thể hướng vào mô hoặc khớp thích hợp và sự phân phối có thể là sự phân phối bằng tiêm nhanh một liều trực tiếp hoặc sự phân phối liên tục. Theo một số phương án, sự phân phối có thể ở mô thích hợp được định vị ở gần khớp bị hỏng. Theo một số phương án, sự phân phối có thể là thông qua tiêm truyền, hoặc thông qua việc tiêm nhanh một liều giải phóng được xác định thời gian. Theo một số phương án, hệ giải phóng có kiểm soát (ví dụ, bơm) có thể được đặt gần đích điều trị bệnh, ví dụ, gần khớp mà polypeptit được dùng. Theo phương án khác, chế phẩm có thể được chọn cho việc phân phối qua đường ăn uống, ví dụ, đường miệng hoặc đường xông.

Polypeptit trị liệu theo sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp hiệu quả với một hoặc nhiều hoạt chất bổ sung (ví dụ, axit hyaluronic hoặc dẫn xuất hoặc muối của nó, yếu tố tăng trưởng (ví dụ, FGF18, BMP7), chất tạo sụn (ví dụ, canxitonin cá

hồi dùng qua đường miệng, SD-6010 (chất ức chế iNOS), vitamin D3 (cholecanxiferol), collagen hydrolyzat, rusalatit axetat, các chất không xà phòng hóa từ quả bơ/đậu nành (ASU), hợp chất được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO2012/129562, kartogenin), steroid, chất kháng viêm không steroid (NSAID), v.v.) tùy thuộc vào liệu pháp hoặc tác dụng mong muốn để cải thiện hoặc làm tăng hiệu quả điều trị bệnh của liệu pháp hoặc tác dụng. Việc điều trị này có thể liên quan đến việc dùng cả hai chất cho người bệnh đồng thời, hoặc dưới dạng chế phẩm đơn lẻ hoặc chế phẩm bào chế có tác dụng dược lý bao gồm cả hai chất, hoặc bằng cách dùng hai chế phẩm riêng biệt hoặc hai chế phẩm bào chế có tác dụng dược lý riêng biệt, trong đó một chế phẩm chứa polypeptit theo sáng chế và chế phẩm còn lại chứa (các) chất thứ hai. Việc dùng chế phẩm có hiệu quả điều trị bệnh chứa polypeptit theo sáng chế có thể trước hoặc sau khi dùng chất thứ hai bằng khoảng thời gian từ vài phút đến vài tuần.

Chế phẩm bào chế chứa hợp chất có thể được bảo quản dưới dạng dung dịch, huyền phù, gel, nhũ tương, chất rắn, hoặc dưới dạng bột đã loại nước hoặc bột đông khô. Chế phẩm bào chế có thể được thể hiện trong các vật chứa hàn kín liều đơn hoặc đa liều, chẳng hạn như ống tiêm và lọ. Theo một số phương án, chế phẩm bào chế có thể được thể hiện trong các ống tiêm đóng sẵn thuốc một buồng hoặc nhiều buồng (ví dụ, ống tiêm dạng lỏng, ống tiêm dạng đông khô). Dung dịch và huyền phù có thể được bào chế từ bột vô trùng, hạt vô trùng và viên nén vô trùng nêu trên.

Sáng chế cũng bộc lộ kit chứa polypeptit hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit theo sáng chế. Theo một khía cạnh của sáng chế, sáng chế bộc lộ kit để sản xuất đơn vị dùng liều đơn. Kit này bao gồm vật chứa thứ nhất chứa polypeptit hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit khô theo sáng chế và vật chứa thứ hai có công thức hoàn nguyên chứa nước. Theo các khía cạnh nhất định của sáng chế, một vật chứa bao gồm ống tiêm đã đóng sẵn thuốc một buồng. Theo khía cạnh khác của sáng chế, vật chứa này được hoàn thiện dưới dạng ống tiêm đã đóng sẵn thuốc nhiều buồng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây được sử dụng để minh họa sáng chế, nhưng không làm giới hạn sáng chế.

Ví dụ 1: Cấu trúc peptit Angptl3 kháng proteaza

Các đột biến cắt ngắn đầu tận cùng N- khác nhau được tạo cấu trúc để loại bỏ sự glycosyl hóa liên kết O- và tạo thuận lợi cho việc mô tả đặc điểm protein lý sinh. Để xác định peptit kháng proteaza, phần tử thể của axit amin được đưa vào các vị trí khác nhau của mảnh peptit Angptl3 của người tương ứng với vùng đầu tận cùng C- của peptit này. Fig.1 thể hiện các vị trí đột biến ở Angptl3 của người. Các cấu trúc ban đầu được điều chế bằng đuôi His. Các protein đột biến là: 225-460 K423Q (225KQ), 225-460 S424T(225ST), 226-460 K423Q (226KQ), 226-460 K423S (226KS), 228-460 K423Q (228KQ), 228-460 S424T (228ST), 233-460 K423Q (233KQ), 233-460 K423S (233KS), 241-460 K423Q (241KQ), 241-460 K423S (241KS), 241-460 Kdel (241Kdel), 242-460 K423Q (242KQ), 242-460 K423S (242KS) và 242-460 Kdel (242Kdel).

Protein gắn đuôi His được biểu hiện trong các tế bào HEK Freestyle™ và được tinh sạch bằng sắc ký cột Ni-NTA. Các cấu trúc đầu tận cùng C- không có đuôi cũng được tách dòng, tinh sạch bằng phương pháp đã được mô tả trước đây (Gonzalez R et al PNAS 2010). Một cách vắn tắt, protein đích có trình tự tín hiệu (1-16) được tách dòng ở vectơ biểu hiện của động vật có vú bằng promoter cytomegalovirus. Sau chuyển nhiễm DNA/PEI trong HEK 293 Freestyle (Invitrogen), thu môi trường chứa protein đích được tiết và tinh sạch bằng cột Hi-Trap SP (GE Healthcare). Tách rửa protein nằm trong khoảng từ MES 50mM (pH 6,0), NaCl 125mM đến MES 50mM (pH 6,0), NaCl 150mM. SDS-PAGE xác nhận rằng protein tinh sạch ít nhất là tinh sạch 95%.

Đánh giá tính kháng proteaza như sau. Tiến hành phân giải protein bằng trypsin (trypsinolysis) giới hạn bằng cách ủ 10ng của mỗi protein điều chế được với trypsin ở tỷ lệ khối lượng 8000:1 (protein:trypsin) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Lúc đó, tôi phản ứng phân giải protein bằng trypsin (trypsinolysis) bằng cách bổ sung axit axetic để phản ứng đạt độ pH 3,0 và phân tích mẫu tôi bằng LC/MS. Đỉnh 5 min RP HPLC tương ứng với khối lượng của 43 axit amin đầu tận cùng C- (S424-E460) rõ ràng đối với cấu trúc protein kiểu đại tương ứng. Vị trí kẹp ở cùng vị trí, nghĩa là, giữa K423 và S424, như được quan sát trong sự tạo ra protein ANGPTL3 kiểu đại có chiều dài đầy đủ. Đỉnh này vắng mặt khi Lys ở vị trí kẹp được tạo đột biến thành Gln. Điều

chế và phân tích mỗi trong số các cấu trúc peptit 225KQ, 228KQ, 233KQ, 233KS, 241KQ và 242KQ; và peptit 225 kiểu đại. Định tương ứng với khối lượng của 43 axit amin đầu tận cùng C- không có mặt khi Lys ở vị trí kẹp được tạo đột biến thành Gln hoặc Ser đối với mỗi trong số các cấu trúc này, hoặc khi Lys ở vị trí 423 bị loại bỏ.

Ví dụ 2: Thử nghiệm gắn kết integrin

Integrin $\alpha V\beta 3$. Các peptit điều chế được 225KQ, 228KQ, 233KQ, 241KQ và 242KQ được thử nghiệm in vitro để gắn kết với integrin $\alpha V\beta 3$. Một cách vắn tắt, các đĩa Maxisorp được bao bằng integrin $\alpha V\beta 3$ 2 μ g/ml và bổ sung các nồng độ khác nhau của cấu trúc polypeptit (chỉ định). Phát hiện peptit gắn kết bằng cách bổ sung mAb kháng -ANGPTL3 tiếp đó là kháng thể IgG kháng chuột của dê tiếp hợp peroxidaza cây cải ngựa. Tất cả các peptit thử nghiệm giữ hoặc cải thiện khả năng gắn kết integrin. Xác định EC₅₀ đối với mỗi peptit từ dữ liệu gắn kết và kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2: Gắn kết in vitro của ANGPTL3 và các cấu trúc polypeptit thiết kế được với integrin

	EC ₅₀ của integrin $\alpha 5\beta 1$	EC ₅₀ của integrin $\alpha V\beta 3$
WT	3,054	3,245
242KQ	1,566	3,076
241KQ	2,693	4,032
233KQ	13,83	6,636
228KQ	4,26	4,051
225KQ	19,89	11,18

Integrin $\alpha 5\beta 1$. Các peptit điều chế được 225KQ, 228KQ, 233KQ, 241KQ và 242KQ được thử nghiệm in vitro để gắn kết với integrin $\alpha 5\beta 1$. Bao các đĩa bằng 2 μ g/ml như được mô tả ở trên nhưng bằng integrin $\alpha 5\beta 1$ và bổ sung các nồng độ khác nhau của cấu trúc polypeptit (chỉ định) và tiến hành phát hiện như được mô tả ở trên. Tất cả các peptit thử nghiệm giữ hoặc cải thiện khả năng gắn kết integrin. Xác định EC₅₀ đối với mỗi peptit từ dữ liệu gắn kết và kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Ví dụ 3: Phân tích chức năng các cấu trúc

Nuôi cấy và biệt hóa tế bào. Tế bào gốc trung mô (hMSCs) được tạo ra từ tủy xương của người dạng sơ cấp được phân loại theo FACS và được chứng minh là

dương tính >98% đối với CD29, CD44, CD166 và CD105 và dương tính <0,1% đối với CD45; và các tế bào được sử dụng từ các đoạn 2-8 đối với các thử nghiệm. Các MSC lưu trú ở sụn của người (hCR-MSCs) được tạo ra từ tế bào sụn khớp ban đầu của người, mà được tách thành tế bào đơn lẻ, cho sinh trưởng vô tính trong MSCGM và được công nhận dưới dạng MSC qua sự biệt hóa sụn, sự biệt hóa xương và sự biệt hóa mỡ. Tế bào được phân loại theo FACS và được chứng minh là dương tính >98% đối với CD166 và CD105. hCR-MSCs được nuôi cấy đến 20 đoạn không có sự thay đổi trong thông số tế bào, tốc độ tăng trưởng và tốc độ biệt hóa được xác định.

Sự tạo sụn. Cấu trúc peptit theo sáng chế được đánh giá trong các thử nghiệm vật lý và thử nghiệm chức năng để đánh giá hoạt tính tạo sụn.

Cấu trúc thiết kế được mà được đề xuất ở đây bắt nguồn từ ANGPTL3 mà thuộc họ gồm bảy protein ANGPTL xác định mà có sự tương tự về cấu trúc với angiopoietin, nhưng thiếu khả năng gắn kết với thụ thể Tie2 và do đó chúng có chức năng khác biệt. Protein ANGPTL chứa miền cuộn được cuộn đầu tận cùng N- (CCD) và miền tương tự fibrinogen đầu tận cùng C- (FLD) và được cho là được điều hòa chặt chẽ bởi vi môi trường và sự tương tác của chúng với chất nền ngoại bào (ECM) chẳng hạn như fibronectin và integrin. Conklin et al., Genomics 62(3): 477-482 (1999); Goh YY, et al., Am J Pathol 177(6): 2791-2803 (2010); Goh YY, et al J Biol Chem 285(43): 32999-33009(2010). Trình tự đối với thành viên họ ANGPTL mà liên quan chặt chẽ nhất với ANGPTL3, ANGPTL1 (miền có chiều dài đầy đủ và đầu tận cùng C-) và ANGPTL4 (miền có chiều dài đầy đủ và đầu tận cùng C-) được nêu trong bảng 3; và bảng 5B mô tả sự bắt cặp qua miền đầu tận cùng C- của các thành viên của họ này. Sự giống nhau về trình tự qua miền ngoại bào và các miền đầu tận cùng C- ANGPTL1, ANGPTL4, cũng như các protein angiopoietin ANGPTL7, ANGPT1 và ANGPT2 khác được nêu trong bảng 5A. Miền đầu tận cùng C- (CT) của ANGPTL3 có 37% sự giống về trình tự với CT ANGPTL1 và có 40% sự giống về trình tự với CT ANGPTL4.

Sự tạo sụn 2D trên cơ sở tế bào được cảm ứng in vitro và được đánh giá như được mô tả trước đây trong Johnson, K. và cộng sự, (2012) Science 336, 717. Ngắn gọn là, tế bào gốc trung mô có nguồn gốc từ tủy xương của người dạng sơ cấp (hMSCs) được đặt vào đĩa trong môi trường tăng trưởng, sau đó thay đổi tiếp theo thành môi trường kích thích sự tạo sụn có cấu trúc và không có cấu trúc.

Để chụp ảnh ban đầu sự tạo nốt sần, các giếng được cố định và được nhuộm bằng Rhodamin B, trong đó các nốt sần dễ dàng được phát hiện bằng mắt và ảnh chụp được bằng kính hiển vi quang học. Để tạo thuận lợi cho sự phát hiện trên cơ sở chụp ảnh có độ phân giải cao và sự định lượng, các nốt sần tạo sụn được nhuộm màu bằng đỏ Nile mà gắn kết không đặc hiệu với collagen. Các nốt sần nhuộm đỏ Nile được định lượng trên thiết bị Acumen eX3 (thiết bị chụp ảnh chất lượng cao) bằng cách kích thích bằng laze 488 để phát hiện nhanh nốt sần.

Bảng 3: Trình tự họ ANGPTL

SEQ ID	Cấu trúc	Trình tự
71	hANGPT L1 1-491	MKTFTWTLGVLFLLVDTGHCRRGGQFKIKKINQRRYPRA TDGKEEAKKCA YTF L VPEQRITGPICVNTKGQDASTIKD MITRMDLENLKDVL SRQKREIDVLQLVVDVDGNIVNEV KLLRKESRNMNSRVTQL YMQLLHEIIRKRDNSLELSQLE NKILNVTTEMLKMATRYRELEV KYASLTDLVNNQSVMI TLLEEQLRIFSRQDTHVSPPL VQVVPQHIPSQQYTPGL LGGNEIQRDPGYPRDLMPDDLATSPTKSPFKIPPVTFINE GPFKDCQQAKEAGHSVSGIYMIKPENSNGPMQL WCENS LDPGGWTVIQKRTDGSVNFFRNWENYKKGFGNIDGEY WLGLENIYMLSNQDNYKLLIELEDWSDKKVYAEYSSFR LEPESEFYRLRLGTYQGNAGDSMMWHNGKQFTTLDRD KDMYAGNCAHFHKGGWWYNACAHSNLNGVWYRGGH YRSKHQDGIFWAEYRGGSYSLRAVQMMIKPID
72	CT hANGPT L1 271-491	FINEGPFKDCQQAKEAGHSVSGIYMIKPENSNGPMQL WC ENSLDPGGWTVIQKRTDGSVNFFRNWENYKKGFGNIDG EYWLGLENIYMLSNQDNYKLLIELEDWSDKKVYAEYSS FRLEPESEFYRLRLGTYQGNAGDSMMWHNGKQFTTLDR DKDMYAGNCAHFHKGGWWYNACAHSNLNGVWYRGG HYRSKHQDGIFWAEYRGGSYSLRAVQMMIKPID
73	hANGPT L4 1-406	MSGAPTAGAALMLCAATAVLLSAQGGPVQSKSPRFASW DEMNVLAHGLLQLGQGLREHAERTRSQLSALERRLSAC GSACQGTEGSTDPLAPESRVDPEVLHSLQTQLKAQNSRI QQLFHKVAQQQRHLEKQHLRIQHLQSQFGLLDHKHLDH EVAKPARRKRLPEMAQPVDPAHNVSRLHRLPRDCQELF QVGERQSGLF EIQPQGSPPFLVNCKMTSDGGWTVIQRH DGSVDFNRPWEAYKAGFGDPHGEFWLGLEKVHSITGDR NSRLAVQLRDWDGNAELLQFSVHLGGEDTAYSLQLTAP VAGQLGATTVPVPSGLSVPFSTWDQDHDLRDKNCAKSL SGGWWFGTCSHSNLNGQYFRSIPQQRQKLKKGIFWKTW RGRYYPLQATTMLIQPMAAEAAS

SEQ ID	Cấu trúc	Trình tự
74	CT hANGPT L4 179- 406	SRLHRLPRDCQELFQVGERQSGLFELIQPGSPFLVNCKM TSDGGWTVIQRRHDGSVDFNRPWEAYKAGFGDPHGEF WLGLEKVHSITGDRNSRLAVQLRDWDGNAELLQFSVHL GGEDTAYSLQLTAPVAGQLGATTVPSPGLSVPFSTWDQD HDLRRDKNCAKSLSGGWVFGTCSHSNLNGQYFRSIPQQ RQKLKKGIFWKTWRGRYYPLQATTMLIQPMAAEAAS

Bảng 4: Sự tạo sụn của protein thành viên họ ANGPTL

Protein	Hoạt tính tạo nốt sần	Colagen cảm ứng loại II	Số truy cập ngân hàng gen
Angptl1	có	có	NP_004664
Angptl2	Không	n/a	NP_036230
Angptl3	có	có	NP_055310
Angptl4	có	không	NP_647475
Angptl6	không	không	NP_114123
Angptl7	không	không	NP_066969
Angpt2	không	n/a	NP_001138
Angpt1	không	n/a	NP_004664

Sự tạo sụn 2D trên cơ sở tế bào được cảm ứng in vitro và được đánh giá như được mô tả trước đây trong Johnson, K. và cộng sự, (2012) Science 336, 717. Ngắn gọn là, tế bào gốc trung mô có nguồn gốc từ tủy xương của người dạng sơ cấp (hMSCs) được đặt vào đĩa trong môi trường sinh trưởng, sau đó thay đổi tiếp theo thành môi trường kích thích tạo sụn có cấu trúc và không có cấu trúc và nuôi cấy trong 7 hoặc 14 ngày. Tiếp đó cố định tế bào bằng formaldehyt, rửa và tiếp đó nhuộm bằng cách sử dụng kỹ thuật hóa học tế bào miễn dịch tiêu chuẩn để phát hiện các protein sụn sơ cấp tiền collagen loại 2A (PIIANP) (Fig.2A) và collagen loại II (Fig.2B). Để phát hiện collagen loại II, tế bào được cắt giới hạn bằng collagenaza II 0,2% (Worthington Biochemical, Lakewood, NJ) mà được bổ sung vào dung dịch thấm. Huỳnh quang miễn dịch đối với mỗi protein phát hiện được được định lượng qua sự tạo ảnh chất lượng cao (image express ultra (Molecular Devices, Sunnyvale, CA)), bằng cách sử dụng chương trình ghi điểm tế bào đa bước sóng và như được mô tả trước đây. Xem Fig.2. Sự biểu hiện aggrecan được giám sát bằng cách điều chế tế bào như sau: ngắn gọn là, hMSC ban đầu (5000 tế bào) được đặt vào đĩa trong đĩa 384 giếng Griener. Sau 24 giờ, loại bỏ môi trường sinh trưởng và thay bằng 25µl DMEM chứa FBS 1%. Tiếp đó, bổ sung cấu trúc protein vào mỗi giếng ở liều chỉ định và nhân giống ở 37°C trong 3 ngày. Cố định tế bào bằng formalin 10% và áp dụng phương pháp hóa học tế bào

miền dịch để phát hiện sự biểu hiện của protein aggrecan. Các giếng được chụp ảnh trên thiết bị ImageXpress Ultra và được định lượng bằng chương trình ghi điểm tế bào đa bước sóng, n=6/nồng độ protein. Kết quả được minh họa trong Fig.3B so với đối chứng (tế bào được kích thích không có cấu trúc, chỉ có chất pha loãng) đối với ANGPTL3 (225-460) đầu tận cùng C- kiểu đại WT, cấu trúc thiết kế được 242KQ hoặc 242Kdel hoặc ANGPTL1 có chiều dài đầy đủ, thành viên của họ liên quan của protein ANGPTL. Kết quả tương tự được nhận thấy bằng các thử nghiệm bằng cách sử dụng mỗi cấu trúc trong số các cấu trúc 225WT, 225KQ, 226KQ, 228KQ, 233KQ, 241KQ và 242KQ.

Thử nghiệm về sự tạo sụn được thực hiện bằng cách sử dụng thử nghiệm và phương pháp được mô tả trên đây và ở đây đối với các thành viên của họ liên quan đến ANGPTL bổ sung. Các thử nghiệm được thực hiện để xem xét liệu protein liên quan mật thiết có hoạt tính tạo sụn hay không và liệu hoạt tính này có được giữ lại ở đầu tận cùng C- của protein này hay không. ANGPTL1 và ANGPTL4 thể hiện hoạt tính trong thử nghiệm tạo nốt sần; tuy nhiên, chỉ ANGPTL1 thể hiện sự cảm ứng collagen loại II trong thử nghiệm tạo sụn. Xem bảng 4. Kết quả thử nghiệm về hoạt tính tạo nốt sần và sự cảm ứng collagen loại II được tổng kết ở bảng 4. Đặc điểm bổ sung về ANGPTL1 được mô tả ở đây. Xem các phần khác của ví dụ này và Fig.3-5.

Bảng 5: Sự tương đồng về trình tự giữa các thành viên của họ tương tự angiopoietin của người

5A: Sự giống nhau về trình tự giữa các thành viên của họ tương tự angiopoietin của người (ECD hoặc CTD)

Thành viên của họ	Thành viên của họ	% sự giống nhau về trình tự
hANGPTL3_17-460	hANGPTL4_26-406	32,6
hANGPTL3_17-460	hANGPTL1_24-491	25,7
hANGPTL3_17-460	hANGPTL7_27-346	28,1
hANGPTL3_17-460	hANGPT1_23-498	24,1
hANGPTL3_17-460	hANGPT2_19-496	23,4
hANGPTL3_241-460	hANGPTL4_179-406	40,0
hANGPTL3_241-460	hANGPTL1_271-491	36,8
hANGPTL3_241-460	hANGPTL7_122-343	36,4
hANGPTL3_241-460	hANGPT1_277-497	37,3

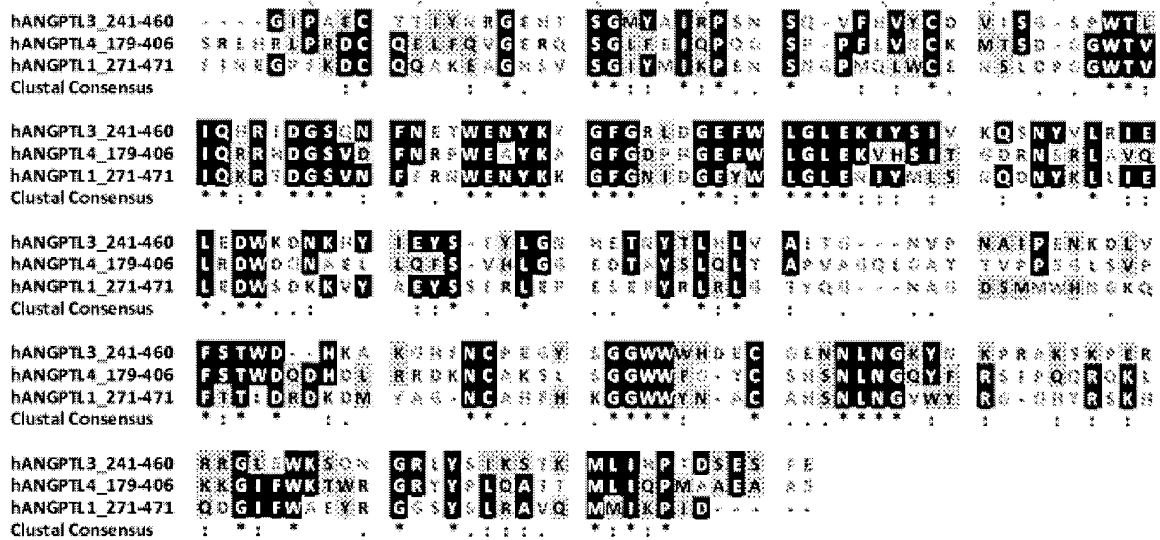
hANGPTL3_241-460

hANGPT2_275-495

36,4

5B: Bắt cặp trình tự của miền đầu tận cùng C- của các thành viên của họ tương tự angiopoietin của người

hANGPTL1(271-491) /hANGPTL3(241-460) /hANGPTL4(179-406)



Phân tích sự biểu hiện ARN cũng được sử dụng để đánh giá sự biểu hiện của các protein cụ thể của sụn. Ngắn gọn là, qRT-PCR hMSCs được cho sinh trưởng trong môi trường nuôi cấy tủy (1x10⁶ tế bào/tủy) trong 3, 7, 10, 21 ngày trong DMEM không chứa huyết thanh, các cấu trúc cộng ITS 1X (như đã chỉ ra). Môi trường được thay đổi mỗi 3 ngày. Lubrixin, aggrecan, Sox9, IGF1, IFITM1, osteocalcin và sự biểu hiện mARN collagen loại X được định lượng bằng cách sử dụng thiết bị Roche LightCycler (dữ liệu được gom từ 3 thử nghiệm lặp lại hai lần (n=6)). Fig.3A thể hiện dữ liệu về sự biểu hiện ở ngày thứ 10 đối với 242KQ và 225WT. Dữ liệu về sự biểu hiện gen là tương tự đối với tất cả các gen ở các ngày 3, 7 và 21.

ANGPTL3 có chiều dài đầy đủ đã được thể hiện ở trên có hoạt tính tạo sụn ở tế bào gốc trung mô của người và của chuột nhắt. Các cấu trúc được thử nghiệm đối với hoạt tính ở tế bào gốc trung mô của người, chuột nhắt, chuột và của chó để minh họa khả năng của sự phản ứng chéo về loài bổ sung. CR-MSCs từ chuột nhắt, chuột, người và chó được cho nuôi cấy bằng các cấu trúc như được mô tả ở trên trong 18 ngày. Dịch nuôi cấy được cố định và được nhuộm bằng cách sử dụng kỹ thuật hóa học tế bào miễn dịch chuẩn để phát hiện protein collagen loại II đặc hiệu tế bào sụn và tế bào dương tính đối với collagen loại II được định lượng bằng cách sử dụng kỹ thuật chụp ảnh chất lượng cao. Sự tăng gấp số lần tương tự về lượng collagen loại II đã được định lượng được xác nhận đối với mỗi loại tế bào được đánh giá.

Bảo vệ sụn. Các cấu trúc peptit được đánh giá trong thử nghiệm chức năng để đánh giá hoạt tính bảo vệ sụn.

Thử nghiệm ức chế sự giải phóng glycosaminoglycan (GAG) ex vivo (chỉ thị về tổn thương chất nền) được thực hiện như được mô tả trong Johnson, K., et al., (2012) Science 336, 717-721. Ngắn gọn là, sụn bò được phân lập, được đóng vào vòng tròn đối xứng và đặt vào dịch nuôi cấy cơ quan. Các lát cắt được xử lý trong 48 giờ bằng TNF α 20ng/ml và oncostatin M (OSM) 10ng/ml (chất trung gian thuộc viêm) để cảm ứng sự thoái biến của chất nền sụn khi có hoặc khi không có cấu trúc protein để xác định sự ức chế theo phần trăm sự giải phóng glycosaminoglycan(GAG). Kết quả được thể hiện ở Fig.4A mô tả dữ liệu được gom từ 4 đối tượng cho, n=12 với cấu trúc thiết kế được như được chỉ ra và WT 225-460.

Thử nghiệm ức chế oxit nitric (NO) in vitro (chỉ thị bảo vệ sụn) được thực hiện như được mô tả trong Johnson, K., et al., (2012) Science 336, 717-721. Ngắn gọn là, tế bào sụn sơ cấp được xử lý trong 48 giờ bằng cấu trúc protein như được chỉ ra. Phản ứng Greiss được thực hiện, để xác định hiệu quả của các cấu trúc đối với sự ức chế sự giải phóng NO theo kết quả thể hiện ở Fig.4B mô tả kết quả với cấu trúc thiết kế được như được chỉ ra và mảnh 225-460 đầu tận cùng C- WT. Kết quả được thể hiện ở Fig.4C mô tả kết quả với ANGPTL1 đầu tận cùng C- kiểu đại, ANGPTL3 thiết kế được 242KQ hoặc đối chứng.

Ức chế tạo sụn xơ hóa. Tế bào sụn khớp của người dạng sơ cấp được nuôi cấy như được mô tả ở trên với sự bổ sung axit ascorbic và sự có mặt hoặc không có cấu trúc (đã chỉ ra) trong 14 ngày để cảm ứng chứng phì đại và sự biểu hiện collagen loại X biểu hiện được đánh giá bằng huỳnh quang miễn dịch. Các kết quả được thể hiện trong Fig.5A mô tả dữ liệu với các cấu trúc 225WT hoặc 242KQ như được chỉ ra. Các kết quả được thể hiện trong Fig.5B mô tả dữ liệu với ANGPTL1 đầu tận cùng C- kiểu đại, 242KQ của ANGPTL3 thiết kế được hoặc 242Kdel của ANGPTL3 thiết kế được hoặc mảnh 225-460 của ANGPTL3 đầu tận cùng C- kiểu đại như được chỉ ra. Sự có mặt của cấu trúc kiểu đại hoặc cấu trúc hoạt tính đem lại tác dụng ức chế sự tạo sụn xơ hóa trong tình trạng phì đại, như được phát hiện bằng sự biểu hiện của collagen loại X.

Sự tạo mạch. Miền đầu tận cùng C- WT của protein ANGPTL3 đã được báo cáo là có hoạt tính và đặc tính tạo mạch in vitro và in vivo trong mô hình màng sừng

của chuột. Xem Camenisch et al., J. Biol. Chem. 277(19): 17281-17290 (2002). Để giải quyết nguy cơ có thể có của việc cảm ứng mạch máu mới sau khi dùng in vivo ANGPTL3 đầu tận cùng C-, thử nghiệm tạo mạch in vitro được thẩm định. Ngắn gọn là, tế bào màng trong tĩnh mạch rốn của người sơ cấp (HUVEC) được bỏ đói trong huyết thanh qua đêm với môi trường tế bào màng trong cơ bản. Tế bào sau đó được đánh dấu xanh bằng thiết bị theo dõi tế bào và được bổ sung vào đĩa matrigel được bao trước có gắn cấu trúc protein (đã chỉ ra). Sau khi nuôi cấy trong 18 giờ khi có ANGPTL3 có chiều dài đầy đủ (50ng/mL) hoặc 242KQ (50ng/mL) hoặc bFGF (50ng/mL) được dùng làm đối chứng dương, số điểm nhánh và tổng độ dài của ống tạo thành được định lượng bằng cách sử dụng chụp ảnh độ phân giải cao làm phép đo hoạt tính tạo mạch. Ngược với tác dụng nhìn thấy được khi có ANGPTL3 có chiều dài đầy đủ hoặc đối chứng dương, không có sự tăng đáng kể về mỗi thông số được phát hiện khi tế bào được ủ với 242KQ. Xem Fig.2C.

CR-MSC tồn tại trong sụn khớp trong suốt và tăng số lượng trong sự đáp ứng với tổn thương. Sau khi sự tổn thương vào đến mô sụn, các tế bào này có khả năng tham gia vào quá trình sửa chữa, nhưng bản thân chúng không đủ để dẫn đến sự sửa sụn chính xác. Do đó, người bệnh để mặc sụn khớp thiếu khả năng thích hợp để hỗ trợ sự dịch chuyển khớp không đau và thường cần sự can thiệp bằng phẫu thuật và/hoặc thay khớp để duy trì chất lượng cuộc sống của họ. Chúng tôi đã nhận thấy ANGPTL3 và cụ thể là peptit ANGPTL3 kháng proteaza được thiết kế có khả năng điều khiển sự biệt hóa CR-MSC của người thành tế bào sụn, cụ thể là tiết ra protein sụn khớp trong suốt collagen loại II và Sox9 trong khi ức chế sự tạo sụn xơ hóa đã nêu bằng sự biểu hiện của collagen loại X.

Không có sự biểu hiện của ANGPTL3 được báo cáo cho chúng tôi hoặc không nhận thấy trong nghiên cứu của chúng tôi bằng cách sử dụng thẩm tách miễn dịch (Western Blotting) trong tế bào sụn của người, MSC của người hoặc nguyên bào sợi hoạt dịch của người. Trong khớp của loài gặm nhấm, rất ít hoặc không có sự biểu hiện nào được nhận thấy qua hóa mô miễn dịch (IHC). Tuy nhiên, trong hoạt dịch viêm xương khớp của người (n=2), ANGPTL3 mức thấp (1,3-6,0ng/mL) được phát hiện bằng thử nghiệm hấp thụ miễn dịch gắn kết enzym (ELISA), giả thiết trong khớp bị tổn thương, protein tuần hoàn khắp cơ thể có thể thâm nhập vào khoang hoạt dịch.

Ví dụ 4: Phân tích cấu trúc in vivo

Mô hình phẫu thuật tổn thương cấp tính ở chuột nhắt. Sự cắt ngang bằng phẫu thuật dây chằng chéo trước (ACL), dây chằng xương chày sụn chêm trong (MMTL) và dây chằng bên trong (MCL) của đầu gối phải từ chuột nhắt C57BL/6 (n=12/nhóm) được tiến hành để cảm ứng tính không ổn định trong khớp gối và do đó tạo ra kiểu hình OA, trên cơ sở mô hình đã được mô tả trước đây Glasson, S.S., et al., Osteoarthritis Cartilage 15, 1061 (2007). Để đánh giá lợi ích điều trị bệnh tiềm năng của việc điều trị bằng ANGPTL3, 15 tuần sau khi phẫu thuật, chuột nhắt được phân liều trong xương khớp một lần/tuần vào các tuần 17-19 như được chỉ ra trong Fig.6A: liều mANGPTL3 = 200ng/đầu gối. Việc đánh giá định lượng mâm xương chày được tiến hành theo tỷ lệ 0-4, 0 là bình thường và 5 là viêm xương khớp nặng (vỡ hoàn toàn độ dày sụn). Hai phần từ mỗi chuột nhắt được phân loại ngẫu nhiên bởi 2 nhà quan sát độc lập (Fig.6B).

Việc giảm viêm xương khớp mà gây đau cho động vật được đo bằng thử nghiệm mất khả năng, hoặc bằng cách xác định tỷ lệ phần trăm thời gian chuột nhắt đứng trên chân được điều trị bằng phẫu thuật so với thời gian chuột nhắt đứng trên chân không được điều trị bằng cách sử dụng thiết bị giám sát sự mất khả năng. Fig.7 thể hiện kết quả, cho thấy đáp ứng đau vào ngày 35 và ngày 56 sau khi phẫu thuật được báo cáo dưới dạng % sức nặng của cơ thể trên chi phẫu thuật so với chi không phẫu thuật. Việc điều trị thể hiện kết quả của động vật được phân liều như được mô tả ở trên bằng ANGPTL3 của loài gặm nhấm có chiều dài đầy đủ (WT17-460) hoặc Angptl3 của người đầu tận cùng C- (WT225-460).

Mô hình OA mạn tính của chuột nhắt (được cảm ứng collagenaza VII). Một mô hình viêm xương khớp ở động vật được sử dụng rộng rãi khác, mô hình chấn thương khớp mạn tính được cảm ứng bởi collagenaza VII, được sử dụng để đánh giá hiệu quả in vivo của các cấu trúc. Mô hình này và sự đánh giá được thực hiện như đã được mô tả. Xem van der Kraan, P.M., et al., Am. J. Pathol. 135, 1001 (1989); và Johnson, K., et al., Science 336, 717 (2012). Ngắn gọn là, giai đoạn viêm ba (3) ngày tiếp đó là sự làm mất ổn định khớp được cảm ứng bởi collagenaza, gây ra sự phá hủy sụn nhẹ đến trung bình. Việc dùng các cấu trúc trong khớp được thực hiện sau khi cảm ứng trong đầu gối một lần/tuần trong ba tuần, bắt đầu 3 tuần sau khi bổ sung collagenaza VII.

Bốn mươi hai (42) ngày sau khi điều trị, khớp được thu và cắt. Vết xước nghiêm trọng ở khớp trên mô bệnh học của đùi và mâm xương chày cho phép định lượng việc sửa chữa mô này. Mức độ nghiêm trọng của vết xước ở khớp được xác định qua vết xước trên mô bệnh học như được mô tả ở trên. Fig.8 mô tả sự sửa chữa bằng các cấu trúc 225WT, 225KQ, 228KQ, 233KQ và 241KQ. Để khẳng định sự có mặt của protein trong khớp (sự duy trì tiềm trong khớp lâu dài), mô được cố định và nhuộm đối với sự có mặt của cấu trúc protein WT qua hóa mô miễn dịch. Sự phân tích đã khẳng định sự có mặt của protein chỉ định việc duy trì tiềm trong khớp của ANGPTL3 (không có tác động được nhận thấy đối với lipid/triglycerit, được đánh giá bằng cách sử dụng bảng chuyển hóa tiêu chuẩn, dữ liệu không được thể hiện.)

Phân tích trên mô bệnh học và sự phân loại trên các mảnh cắt được nhuộm Safranin O của mâm xương chày giữa (để phát hiện proteoglycan ở vị trí tổn thương, như được mô tả ở trên) cho thấy sự tái tạo sụn trong chất nền của sụn (dữ liệu không được thể hiện). Phân tích định tính khẳng định sự thay thế proteoglycan mà tương tự mức độ được nhận thấy ở chuột nhất nguyên bản, trong khi đối chứng sử dụng chất dẫn thuốc không thể hiện sự thay thế tương tự. Mảnh cắt mô cũng được nhuộm như được mô tả ở trên đối với collagen loại II trong 8 tuần sau khi tiêm của tổn thương. Phân tích định tính khẳng định sự tăng collagen loại II ở khớp được điều trị bằng cấu trúc tương tự mức độ được nhận thấy ở chuột nhất nguyên bản; trong khi đối chứng được điều trị bằng chất dẫn thuốc không thể hiện sự tăng tương tự (dữ liệu không được thể hiện).

Mô hình rách sụn chêm chuột

Mô hình tổn thương dùng phẫu thuật của chuột cũng được sử dụng để đánh giá hiệu quả của các cấu trúc in vivo. Mô hình và sự đánh giá ban đầu được tiến hành như được mô tả trước đây Gerwin N. et al. Osteoarthritis Cartilage. Suppl 3: S24 (2010). Ngắn gọn là, lớp bao ngoài được cạo trên khớp gối và dây chằng bên trong (MCL) được phân lập qua vết rạch và MCL được làm ổn định và một vết cắt xa của sụn chêm được thực hiện bằng cách sử dụng dao mổ. Vào các tuần 1, 2 và 3 sau khi phẫu thuật, cấu trúc protein hoặc đối chứng chất dẫn thuốc được tiêm trong khớp, sau đó, khớp được thu và cắt ở 4 và 6 tuần sau phẫu thuật. Vết xước nghiêm trọng của khớp trên mô

bệnh học của đùi và mâm xương chày được thực hiện để định lượng sự sửa chữa mô như được mô tả ở trên. Dữ liệu được thể hiện đối với sự phân tích sau 6 tuần.

Sụn khớp trong suốt khỏe mạnh đã thay thế tổn thương sau khi điều trị. Phân tích mô và phân loại mô mâm xương chày bên của sụn nhuộm safranin O được thực hiện như được mô tả ở trên và kết quả định lượng chứng minh động vật được điều trị bằng cấu trúc 242KQ thể hiện sự tái tạo sụn trong chất nền của sụn và sự thay thế proteoglycan tương tự với mức độ nhận thấy được ở chuột nhắt nguyên bản, trong khi đối chứng chất dẫn thuốc không thể hiện sự thay thế tương tự. Xem Fig.9. Các kết quả tương tự nhận thấy được bằng 225WT.

Mô hình sụn chêm rách được cảm ứng bằng phẫu thuật đã được thay đổi không đáng kể đã được mô tả ở trên được sử dụng để khởi động tổn thương sụn ở chuột Lewis đực nhằm kiểm tra tính hiệu quả của 242KQ trong việc thúc đẩy sự sửa chữa sụn in vivo. Phẫu thuật trên chuột được thực hiện để cắt đứt hoàn toàn dây chằng bên trong và sụn chêm trong làm mất ổn định khớp sao cho sức nặng của cơ thể tương lai sẽ dẫn đến sự thoái hóa sụn nhanh chóng. Thực hiện một vết rạch để cắt đứt dây chằng trên cả hai phía kim, do đó đảm bảo một đường cắt hoàn chỉnh. Lưỡi dao mổ sau đó được dùng để trượt dưới dây chằng bánh chè vào hoạt dịch và đầu nhọn được sử dụng để cắt sụn chêm. Mảnh cắt thành công được thực hiện khi khớp dịch chuyển sang hướng bên. Một tuần sau khi phẫu thuật, chuột được phân liều bằng tiêm 242KQ trong khớp hoặc nước muối với thể tích 25 μ L vào khoang hoạt dịch bằng tiêm trong khớp.

Hai mươi tám ngày sau phẫu thuật sụn chêm rách và hai mươi một ngày sau khi tiêm trong khớp nước muối hoặc cấu trúc, động vật nghiên cứu được cho chết êm dịu và khớp bị hỏng được thu hoạch để phân tích, cố định trong formalin 10% trong PBS, khử canxi bằng axit formic và nhúng vào parafin trước khi cắt. Các mảnh cắt ngang vòng được cắt và được nhuộm safranin O hoặc để lại không nhuộm cho việc nhuộm hóa mô miễn dịch trong tương lai. Sự phân tích chỉ ra rằng mâm xương chày giữa có lượng tổn thương sụn lớn nhất và người ta quyết định chỉ đánh giá vùng này của khớp đối với hiệu quả của 242KQ. Bằng cách sử dụng hệ ghi điểm OARSI, điểm số mức nghiêm trọng của sụn được ấn định cho 6 mảnh cắt ngang qua chiều rộng của sụn xương chày cho mỗi động vật (N=10) theo cách không nhìn thấy. Việc ghi điểm được tiến hành hai lần ở các thời điểm khác nhau và các điểm sau đó được lấy trung bình để tạo ra điểm tổn thương sụn. Ngoài ra, các phân tích ghi điểm khách quan được thực

hiện bằng chương trình thông thường được tạo ra trong Matlab. Thuật toán này xác định bề mặt sụn khớp và thông số sụn bổ sung được định lượng khách quan (phân tích cục bộ, độ mạnh safranin O, diện tích sụn, độ dày sụn). Kết quả được mô tả trong Fig.10A.

Sự sửa chữa cấu trúc sụn không phải luôn luôn liên quan đến sự giảm đau, ít nhất là ở người. Mặc dù sinh lý và đáng đi của loài gặm nhấm khác đáng kể so với sinh lý và đáng đi của người, 242KQ được đánh giá để xác định liệu có bất kỳ sự cải thiện nào về đáng đi hoặc khoảng thời gian dành cho chi phẫu thuật sau khi điều trị. Việc giám sát sự mất khả năng được thực hiện trên chuột được điều trị bằng 242KQ. Chuột được trải qua phẫu thuật sụn chêm được cải biến như được mô tả ở trên. Một tuần sau khi phẫu thuật, 242KQ được tiêm vào khoang hoạt dịch. Vào ngày 28, chuột được đặt vào thiết bị giám sát sự mất khả năng trên các chi sau của chúng và 30 lần đọc tiếp theo mất hơn 10 phút đối với mỗi chuột để xác định phần trăm thời gian tiêu tốn (sự phân bố trọng lượng) trên mỗi chi sau. Các dữ liệu này chỉ ra dấu hiệu về sự phân phối lại trọng lượng do đau. Người ta đã xác định rằng trong mô hình sụn chêm rách của chuột, việc điều trị bằng 242KQ một tuần sau khi phẫu thuật dẫn đến sự hồi phục một phần khả năng chịu trọng lượng ngang bằng của chuột. Xem Fig.10B.

Một trong số thách thức ban đầu trong quá trình sửa chữa sụn tự phát hoặc qua phẫu thuật là sự thay thế sụn khớp trong suốt bằng sụn xơ hóa. Để phát hiện loại sửa chữa sụn qua trung gian ANGPTL3, mảnh cắt từ đầu gối của chuột thu được từ nghiên cứu sụn chêm rách của chuột đã được tiến hành ở trên được nhuộm màu để có mặt collagen loại II (để chỉ ra sụn khớp trong suốt) và collagen loại X (để chỉ ra sụn xơ hóa). Sau khi tiêm 20 μ g 242KQ đơn lẻ, có sự giảm định tính về lượng biểu hiện collagen loại X.

Sự duy trì lâu dài 242KQ sau khi tiêm tĩnh mạch và tiêm trong khớp vào đầu gối của chuột được xác định qua việc dùng và đánh dấu ^{124}I protein và tiếp đó là PET /tạo ảnh uCT để giám sát sự duy trì. Xem, Gerwin, N., et al. (2006) Advanced drug delivery reviews 58, 226-242. Thời gian duy trì trung bình (MRT) sau khi tiêm IA 242KQ vào khớp được xác định là ~17,3h mà được tăng đáng kể so với thời gian chuẩn được thông báo là 2-3h (xem bảng 6).

Bảng 6: Độ tồn lưu của ^{124}I 242KQ

Đường	Liều (μg)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	$\text{AUC}_{0-\text{inf}}$ ($\text{hr} \cdot \mu\text{g/mL}$)	CL (mL/h)	V_{ss} (mL)	MRT (h)	$T_{1/2}$ (h)
-------	------------------------	--	---	-------------------------	------------------------------------	---------	------------------

IV	164,2	129,3	22,1	7,4	53,4	7,2	12,4
IA	38,3	0,2	1.9	-	-	17,3	7,2

Mô hình chấn thương khớp sụn chêm một phần của chó. Chúng tôi cũng đã đánh giá hoạt tính của ANGPTL3 trong mô hình chấn thương khớp ở chó. Mô hình này được tiến hành và đánh giá như được mô tả trong Connor, J.R., et al., Osteoarthritis and cartilage/OARS, Osteoarthritis Research Society 17, 1236-1243 (2009). Ngắn gọn là, lớp phủ được cạo trên khớp đầu gối và dây chằng bên trong (MCL) được phân lập được qua vết rạch và MCL được làm ổn định và mảnh cắt đầu xa của sụn chêm được tạo ra bằng cách sử dụng dao mổ. Bốn (4) ngày sau khi phẫu thuật, động vật nhận liều hai lần hằng tuần ($1,5\mu\text{g}$ hoặc $15\mu\text{g}$), hoặc liều đơn ($30\mu\text{g}$) cấu trúc protein (ANGPTL3 của chó có chiều dài đầy đủ) vào ngày thứ 7 hoặc đối chứng chất dẫn thuốc (tiêm trong khớp). Chó được cho chết êm dịu vào ngày thứ 28 và đầu gối trải qua việc cắt và phân loại mô như được mô tả ở trên cho thử nghiệm của chuột và của chuột nhắt. Fig.10 mô tả tổng điểm của sự sửa chữa liên quan đến sự điều trị ANGPTL3 của chó. Khi chấm điểm và đánh giá trên mô bệnh học mảnh cắt khớp của chó đã được nhuộm safranin O, khu vực trong đó sự mất sụn nặng nhất diễn ra ở nhóm dùng nước muối là phần khớp có sự giảm nhiều nhất trong khu vực thương tổn sau khi dùng liều đơn $30\mu\text{g}$ cANGPTL3.

Cần hiểu rằng phần ví dụ thực hiện sáng chế và các phương án được mô tả ở đây là nhằm để minh họa và rằng các biến thể hoặc thay đổi khác nhau sẽ được đề xuất bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và cần được bao gồm trong đơn và phạm vi yêu cầu bảo hộ.

Trình tự

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
1	ANGPTL3 của người	MFTIKLLLFIIVPL VISSRIDQDNSSFDSLSPKSRFAMLDDVKIL ANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQSFYDL SLQT SEIKKEEEKELRRTTYKLQVKNEEVKNMSLELNSKLESLLEEKIL LQQKVKYLEEQLTNLIQNQPETPEHPEVTSKTFVEKQDNSIK DLLQTVEDQYKQLNQQHSQIKEIENQLRRTSIQEPTEISLSSKPR APRTTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPS NSQVFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFG RLDGEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFY LGNHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHF NCPEGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPRAKSKPERRRGL SWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
2	Angptl3 của người REFSEQ	ttcagaagaaaacagttccacgttgcttgaaattgaaaatcaagataaaaatgttcacaattaagctc cttcttttattgttcctctagttatttctccagaattgatcaagacaattcatcttgcattctctatctcca gagccaaaatcaagatttgctatgtagacgatgtaaaaatttagccaatggcctccttcagttggga catggctctaaagactttgtccataagacgaaggccaaattaatgacatatttcaaaaactcaacata tttgatcagttctttatgatctatcgctgcaaaccagtgaatcaaagaagaagaaaaggaactgag aagaactacatataaaactacaagtcaaaaatgaagaggtaaagaatatgtcacttgaactcaactca aaactgaaaagcctcctagaagaaaaaattctacttcaaaaaagtgaatatattagaagagcaact aactaacttaattcaaaaatcaacctgaaactccagaacaccagaaagtaacttcacttaaaactttgt agaaaaacaagataatagcatcaagaccttctccagaccgtggaagaccaatataaacaattaaa ccaacagcatagtcataaaaagaatagaaaatcagctcagaaggactagttatcaagaaccac agaaatttctctatcttccaagccaagagcaccaagaactactcccttcttcagttgaatgaaataag aatgtaaaacatgatggcattcctgctgaatgtaccaccatttataacagaggtgaacatacaagt gcatgtatgccatcagaccagcaactctcaagttttcatgtctactgtgatgttatatcaggtagtc atggacattaattcaacatcgaatagatggatcacaacttcaatgaacgtgggagaactacaaa tatggttttgggaggcttgatggagaattttgggtgggccttagagaagatactccatagtgaaagca atctaattatgtttacgaattgagttggaagactggaaagacaacaaacattatattgaatattctttta cttgggaaatcacgaaaccaactatacgtacatctagttgcgattactggcaatgtcccaatgcaa tcccggaaaacaaagatttggtgtttctacttgggatcacaagcaaaaggacacttcaactgtcca gagggtattcaggaggctgggtgggcatgatgagtggtggagaaaacaacctaataatggtaaatat aacaaccaagagcaaaaatctaagccagagaggagaagaggattatcttgggaagtctcaaaatgg aaggttatactctataaaatcaacaaaatgtgatccatccaacagattcagaaagctttgaatgaac tgaggcaaatttaaaaggcaataatttaaacattaacctcattccaagttaattgtggtctaataatctgg tattaaatcctaagagaaaagcttgagaatagattttttatcttaaaagtcactgtctatttaagattaaa catacaatcacataaccttaaaagaataaccgtttacatttctcaatcaaaaattcttataatactattgtttta aatgttgatgtgggaatcaatttttagatgggcacaatctagattataatcaataggtgaacttattaaat aacttttctaataaaaaaatttagagacttttttttaaaaggcatcatatgagctaataatcacaacttcc cagtttaaaaaactagtagtcttgttaaaactctaaacttgactaaatacagaggactggttaattgtaca gttcttaaatgttgtagtattattcaaaaactaaaaatcgtagcacagagtagtgtaaaaaatctgtaa tacaatttttaactgatgcttcattttgtacaaaataatttgagtagtaattgttgatattgatttattg aaacctaataagcagaattaaatactgtattaaaataagttcgctgtctttaaacaatggagatgac tactaagtcacattgactttaacatgaggtatcactatacttatt

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
3	ANGPTL3 của gặm nhấm	MHTIKLFLFVVPLVIASRVDPDLSSFDSAPSEPKSRFAMLDDVK ILANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQSFYDLSLR TNEIKKEEKELRRTTSTLQVKNEEVKNMSVELNSKLESLLEEK TALQHKVRALEEQLTNLILSPAGAEHPEVTSLSKSFVEQQDNSI RELLQSVVEEQYKQLSQQHMQIKEIEKQLRKTGIQEPSSENSLSSK SRAPRTTPPLQLNETENTEQDDLPADESAVYNRGEHTSGVYTI KPRNSQGFNVYCDTQSGSPWTLIQHRKDGSQDFNETWENYEK GFGRLDGEFWLGLEKIYAIVQQSNYILRLELQDWKDSKHVE YSFHLGSHETNYTLHVAEIAGNIPGALPEHTDLMFSTWNHRAK GQLYCPESSYSGGWWNDICGENNLNGKYNKPRTKSRPERRR GIYWRPQSRKLYAIKSSKMMMLQPTT
4	ANGPTL3 của chó	MYTIKLFLFIPLVISSKIDRDYSSYDSVSPEPKSRFAMLDDVKIL ANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQSFYDLSLQT NEIKKEEKELRRTTSKLQVKNEEVKNMSLELNSKVESLLEEKIL LQQKVRYLEKQLTSLIKNQPEIQEHPEVTSLKTFVEQQDNSIKD LLQTVVEEQYRQLNQQHSQIKEIENQLRNVIQESTENSLSSKPRA PRTTPFLHLNETKNVEHNDIPANCTTIYNRGEHTSGIYSIRPSNS QVFNVCYCDVKSGSSWTLIQHRIDGSQNFNETWENYRYGFGRL DGEFWLGLEKIYSIVKQSNYILRIELEDWNDNKHYIEYFFHLG NHETNYTLHLVEITGNILNALPEHKDLVFSTWDHKAKGHVNC PESYSGGWWWHNVCGENNLNGKYNKQRAKTKPERRRGLYW KSQNGRLYSIKSTKMLIHPIDSESSE
5	ANGPTL3 của ngựa	MYTIKLFLVIAPLVISSRIDQDYSSLDSIPPEPKSRFAMLDDVKIL ANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQSFYALSLQT NEIKKEEKELRRTTSKLQVKNEEVKNMSLELNSKLESLLEEK LLQQKVYLEEQLTSLIKNQPEIQEHPEVTSLKTFVEQQDNSIK DLLQTMEEQYRQLNQQHSQIKEIENQLRRTGIQESTENSLSSKP RAPRTTPSFHLNETKDVEHDDFPADCTTIYNRGEHTSGIYSIKP SNSQVFNVCYCDVISGSSWILQRRIDGSQNFNETWQNYKYGFG RLDFEFWLGLEKIYSIVKRSNYILRIELEDWKDNKHTIEYSFHL GNHETNYTLHLVEITGNVPNALPEHKDLVFSTWDHKAKGQLN CLESYSGGWWWHDVCGGDNPNNGKYNKPRSKTKPERRRGIC WKSQNGRLYTIKSTKMLIHPIDSESSEFELRQIKKPMN
6	ANGPTL3 của bò	MYTIKLFLIAPLVISSRTDQDYTSLSISPEPKSRFAMLDDVKIL ANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQSFYDLSLQT NEIKKEEKELRRATSKLQVKNEEVKNMSLELDSKLESLLEEKIL LQQKVRYLEDLTDLIKNQPQIQEYLEVTSKTLVEQQDNSIK DLLQIVVEEQYRQLNQQSQIKEIENQLRRTGIKESTEISLSSKPR APRTTPSFHSNETKNVEHDDIPADCTIYNQKGHTSGIYSIRPSN SQVFNVCYCDVKSGSSWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFG LDGEFWLGLEKIYSIVMQSNYILRIELEDWKDKYYTEYSFHLG DHETNYTLHLAEISGNGPKAFPEHKDLMFSTWDHKAKGHFNC PESNSGGWWYHVCGENNLNGKYNKPKAKAKPERKEGICW KSQDGRLYSIKATKMLIHPSDSENSE

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
7	207-455WT	IQEPTEISLSSKPRAPRTTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRG EHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNE TWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWK DNKHYIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFS TWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPR AKSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTD
8	225-455WT	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPRAKSKPERRRGLSWK SQNGRLYSIKSTKMLIHPTD
9	228-455WT	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGY SGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPRAKSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTD
10	233-455WT	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCD VISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLE KIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGW WWHDEC GENNLNGKYNKPRAKSKPERRRGLSWKSQNGRLY SIKSTKMLIHPTD
11	241-455WT	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NHETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDEC GE NNLNGKYNKPRAKSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTD
12	ANGPTL3 KQ	MFTIKLLLFIVPLVISSRIDQDNSSFDSLSEPKSRFAMLDDVKIL ANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQSFYDLSLQT SEIKEEEKELRRTTYKLQVKNEEVKNMSLELNSKLESLLEEKIL LQQKVKYLEEQLTNLIQNQPETPEHPEVTSKTFVEKQDNSIK DLLQTVEDQYKQLNQQHSQIKEIENQLRRTSIQEPTEISLSSKPR APRTTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPS NSQVFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGF GRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFY LG NHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHF NCPEGYSGGWWWHDEC GENNLNGKYNKPRASQSKPERRRGL SWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
13	ANGPTL3 KS	MFTIKLLLFIVPL VISSRIDQDNSSFDSLSEPKSRFAMLDDVKIL ANGLLQLGHGLKDFVHKTKGQINDIFQKLNIFDQSFYDLSLQT SEIKEEEKELRRTTYKLQVKNEEVKNMSLELNSKLESLLEEKIL LQQKVKYLEEQLTNLIQNQPETPEHPEVTSKTFVEKQDNSIK DLLQTVEDQYKQLNQQHSQIKEIENQLRRTSIQEPTEISLSSKPR APRTTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPS NSQVFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGF RLDGEFWLGLLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFY LGNHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHF NCPEGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLS WKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESE
14	207KQ	IQEPTEISLSSKPRAPRTTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNR EHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNE TWENYKYGFGRDLGEFWLGLLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWK DNKHIEYSFYLGHNHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFS TWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPR AQSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESE
15	207KS	IQEPTEISLSSKPRAPRTTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNR EHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNE TWENYKYGFGRDLGEFWLGLLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWK DNKHIEYSFYLGHNHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFS TWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPR ASSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESE
16	225KQ	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRDL GEFWLGLLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLG HNHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWK SQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESE
17	225KS	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRDL GEFWLGLLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLG HNHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWK SQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESE
18	225ST	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRDL GEFWLGLLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLG HNHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWK SQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESE

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
19	226KQ	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEG YSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
20	226KS	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEG YSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
21	228KQ	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNEHET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGY SGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
22	228KS	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNEHET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGY SGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
23	228ST	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNEHET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGY SGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRAKTKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
24	233KQ	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCD VISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLE KIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNEHETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGW WWHDECGENNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQNGRLY SIKSTKMLIHPTDSESFE
25	233KS	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCD VISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLE KIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNEHETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGW WWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLY SIKSTKMLIHPTDSESFE

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
26	241KQ	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECCE NNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTDSESFE
27	241KS	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECCE NNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHP TDESSEFE
28	242KQ	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLI QHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECCE NNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTDSESFE
29	242KS	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLI QHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECCE NNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHP TDESSEFE
30	225-455KQ	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECENNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWK SQNGRLYSIKSTKMLIHPTD
31	225-455KS	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWK SQNGRLYSIKSTKMLIHPTD
32	226-455KQ	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECENNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTD

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
33	226-455KS	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEG YSGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQ NGRLYSIKSTKMLIHPTD
34	228-455KQ	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNEHET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGY SGGWWHDECGENNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQN GRLYSIKSTKMLIHPTD
35	228-455KS	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNEHET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGY SGGWWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQN GRLYSIKSTKMLIHPTD
36	233-455KQ	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCD VISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLE KIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNEHETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGW WWHDECGENNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQNGRLY SIKSTKMLIHPTD
37	233-455KS	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCD VISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLE KIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNEHETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGW WWHDECGENNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLYS IKSTKMLIHPTD
38	241-455KQ	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNEHETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWHDECGE NNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTD
39	241-455KS	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNEHETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWHDECGE NNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTD

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
40	242-455KQ	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLI QHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECCE NNLNGKYNKPRAQSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIH PTD
41	242-455KS	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLI QHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECCE NNLNGKYNKPRASSKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHP TD
42	227KQ của chó	FLHLNETKNVEHNDIPANCTTIYNRGEHTSGIYSIRPSNSQVFN VYCDVKSGSSWTLIQHRIDGSQNFNETWENYRYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQSNYILRIELEDWNDKNHIEYFFHLGNHET NYTLHLVEITGNILNALPEHKDLVFSTWDHKAKGHVNCPESSYS GGWWWHNVCGENNLNGKYNKQRAQTKPERRRGLYWKSQN GRLYSIKSTKMLIHPIDSESSE
43	227KS của chó	FLHLNETKNVEHNDIPANCTTIYNRGEHTSGIYSIRPSNSQVFN VYCDVKSGSSWTLIQHRIDGSQNFNETWENYRYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQSNYILRIELEDWNDKNHIEYFFHLGNHET NYTLHLVEITGNILNALPEHKDLVFSTWDHKAKGHVNCPESSYS GGWWWHNVCGENNLNGKYNKQRASTKPERRRGLYWKSQN GRLYSIKSTKMLIHPIDSESSE
44	Trình tự axit nucleic 225WT	ACTACTCCCTTTCTTCAGTTGAATGAAATAAGAAATGTAAA ACATGATGGCATTCTTGCTGAATGTACCACCATTTATAACA GAGGTGAACATAACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAG CAACTCTCAAGTTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGG TAGTCCATGGACATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCAC AAAACCTCAATGAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTT GGGAGGCTTGATGGAGAATTTTGGTTGGGCCTAGAGAAGAT ATACTCCATAGTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAATTG AGTTGGAAGACTGGAAAGACAACAAACATTATATTGAATA TTCTTTTTACTTGGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTAC ATCTAGTTGCGATTACTGGCAATGTCCCCAATGCAATCCCG GAAAACAAAGATTTGGTGTTTTCTACTTGGGATCACAAAGC AAAAGGACACTTCAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCT GGTGGTGGCATGATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAATGG TAAATATAACAAACCAAGAGCAAAATCTAAGCCAGAGAGG AGAAGAGGATTATCTTGGAAGTCTCAAAATGGAAGGTTATA CTCTATAAAATCAACCAAAATGTTGATCCATCCAACAGATT CAGAAAGCTTTGAA

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
45	Trình tự axit nucleic 225KQ	ACTACTCCCTTTCTTCAGTTGAATGAAATAAGAAATGTAAA ACATGATGGCATTCTCTGCTGAATGTACCACCATTTATAACA GAGGTGAACATACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAG CAACTCTCAAGTTTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGG TAGTCCATGGACATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCAC AAAACTTCAATGAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTT GGGAGGCTTGATGGAGAATTTTGGTTGGGCCTAGAGAAGAT ATACTCCATAGTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAATTG AGTTGGAAGACTGGAAAGACAACAAACATTATATTGAATA TTCTTTTTACTTGGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTAC ATCTAGTTGCGATTACTGGCAATGTCCCCAATGCAATCCCG GAAAACAAAGATTTGGTGTTTTCTACTTGGGATCACAAAGC AAAAGGACACTTCAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCT GGTGGTGGCATGATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAATGG TAAATATAACAAACCAAGAGCACAATCTAAGCCAGAGAGG AGAAGAGGATTATCTTGGAAGTCTCAAAATGGAAGGTTATA CTCTATAAAATCAACCAAAAATGTTGATCCATCCAACAGATT CAGAAAGCTTTGAA
46	Trình tự axit nucleic 225KS	ACTACTCCCTTTCTTCAGTTGAATGAAATAAGAAATGTAAA ACATGATGGCATTCTCTGCTGAATGTACCACCATTTATAACA GAGGTGAACATACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAG CAACTCTCAAGTTTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGG TAGTCCATGGACATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCAC AAAACTTCAATGAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTT GGGAGGCTTGATGGAGAATTTTGGTTGGGCCTAGAGAAGAT ATACTCCATAGTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAATTG AGTTGGAAGACTGGAAAGACAACAAACATTATATTGAATA TTCTTTTTACTTGGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTAC ATCTAGTTGCGATTACTGGCAATGTCCCCAATGCAATCCCG GAAAACAAAGATTTGGTGTTTTCTACTTGGGATCACAAAGC AAAAGGACACTTCAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCT GGTGGTGGCATGATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAATGG TAAATATAACAAACCAAGAGCAAGCTCTAAGCCAGAGAGG AGAAGAGGATTATCTTGGAAGTCTCAAAATGGAAGGTTATA CTCTATAAAATCAACCAAAAATGTTGATCCATCCAACAGATT CAGAAAGCTTTGAA

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
47	Trình tự axit nucleic 226KQ	ACTCCCTTTCTTCAGTTGAATGAAATAAGAAATGTAAAACA TGATGGCATTTCCTGCTGAATGTACCACCATTATTAACAGAG GTGAACATACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAGCAAC TCTCAAGTTTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGGTAGT CCATGGACATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCACAAAA CTTCAATGAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTTGGGA GGCTTGATGGAGAATTTTGGTTGGGCCTAGAGAAGATATAC TCCATAGTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAATTGAGTT GGAAGACTGGAAAGACAACAAACATTATATTGAATATTCTT TTTACTTGGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTACATCTA GTTGCGATTACTGGCAATGTCCCAATGCAATCCCGGAAAA CAAAGATTTGGTGTTTTCTACTTGGGATCACAAAGCAAAAG GACACTTCAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCTGGTGG TGGCATGATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAATGGTAAAT ATAACAAACCAAGAGCACAATCTAAGCCAGAGAGGAGAAG AGGATTATCTTGGAAGTCTCAAAATGGAAGGTTATACTCTA TAAAATCAACCAAAAATGTTGATCCATCCAACAGATTCAGAA AGCTTTGAA
48	Trình tự axit nucleic 226KS	ACTCCCTTTCTTCAGTTGAATGAAATAAGAAATGTAAAACA TGATGGCATTTCCTGCTGAATGTACCACCATTATTAACAGAG GTGAACATACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAGCAAC TCTCAAGTTTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGGTAGT CCATGGACATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCACAAAA CTTCAATGAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTTGGGA GGCTTGATGGAGAATTTTGGTTGGGCCTAGAGAAGATATAC TCCATAGTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAATTGAGTT GGAAGACTGGAAAGACAACAAACATTATATTGAATATTCTT TTTACTTGGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTACATCTA GTTGCGATTACTGGCAATGTCCCAATGCAATCCCGGAAAA CAAAGATTTGGTGTTTTCTACTTGGGATCACAAAGCAAAAG GACACTTCAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCTGGTGG TGGCATGATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAATGGTAAAT ATAACAAACCAAGAGCAAGCTCTAAGCCAGAGAGGAGAAG AGGATTATCTTGGAAGTCTCAAAATGGAAGGTTATACTCTA TAAAATCAACCAAAAATGTTGATCCATCCAACAGATTCAGAA AGCTTTGAA

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
49	Trình tự axit nucleic 228KQ	TTTCTTCAGTTGAATGAAATAAGAAATGTAAAACATGATGG CATTCCTGCTGAATGTACCACCATTATAACAGAGGTGAAC ATACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAGCAACTCTCAA GTTTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGGTAGTCCATGG ACATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCACAAAACCTTCAA TGAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTTGGGAGGCTTG ATGGAGAATTTTGGTTGGGCCTAGAGAAGATATACTCCATA GTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAATTGAGTTGGAAGA CTGGAAAGACAACAAACATTATATTGAATATTCTTTTTACTT GGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTACATCTAGTTGCGA TTACTGGCAATGTCCCCAATGCAATCCCGGAAAACAAAGAT TTGGTGTTTTCTACTTGGGATCACAAAGCAAAAGGACACTT CAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCTGGTGGTGGCATG ATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAATGGTAAATATAACAA ACCAAGAGCACAATCTAAGCCAGAGAGGAGAAGAGGATTA TCTTGGAAGTCTCAAAATGGAAGGTTATACTCTATAAAATC AACCAAAATGTTGATCCATCCAACAGATTCAGAAAGCTTTG AA
50	Trình tự axit nucleic 228KS	TTTCTTCAGTTGAATGAAATAAGAAATGTAAAACATGATGG CATTCCTGCTGAATGTACCACCATTATAACAGAGGTGAAC ATACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAGCAACTCTCAA GTTTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGGTAGTCCATGG ACATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCACAAAACCTTCAA TGAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTTGGGAGGCTTG ATGGAGAATTTTGGTTGGGCCTAGAGAAGATATACTCCATA GTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAATTGAGTTGGAAGA CTGGAAAGACAACAAACATTATATTGAATATTCTTTTTACTT GGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTACATCTAGTTGCGA TTACTGGCAATGTCCCCAATGCAATCCCGGAAAACAAAGAT TTGGTGTTTTCTACTTGGGATCACAAAGCAAAAGGACACTT CAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCTGGTGGTGGCATG ATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAATGGTAAATATAACAA ACCAAGAGCAAGCTCTAAGCCAGAGAGGAGAAGAGGATTA TCTTGGAAGTCTCAAAATGGAAGGTTATACTCTATAAAATC AACCAAAATGTTGATCCATCCAACAGATTCAGAAAGCTTTG AA

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
51	Trình tự axit nucleic 233KQ	GAAATAAGAAATGTAAAACATGATGGCATTCTGCTGAATG TACCACCATTATAACAGAGGTGAACATACAAGTGGCATGT ATGCCATCAGACCCAGCAACTCTCAAGTTTTTCATGTCTACT GTGATGTTATATCAGGTAGTCCATGGACATTAATTCAACAT CGAATAGATGGATCACAAAACCTTCAATGAAACGTGGGAGA ACTACAAATATGGTTTTGGGAGGCTTGATGGAGAATTTTGG TTGGGCCTAGAGAAGATATACTCCATAGTGAAGCAATCTAA TTATGTTTTACGAATTGAGTTGGAAGACTGGAAAGACAACA AACATTATATTGAATATTCTTTTTACTTGGGAAATCACGAA ACCAACTATACGCTACATCTAGTTGCGATTACTGGCAATGT CCCCAATGCAATCCCGGAAAACAAAGATTTGGTGTTTTCTA CTTGGGATCACAAAGCAAAAGGACACTTCAACTGTCCAGA GGGTATTTCAGGAGGCTGGTGGTGGCATGATGAGTGTGGAG AAAACAACCTAAATGGTAAATATAACAAACCAAGAGCACA ATCTAAGCCAGAGAGGAGAAGAGGATTATCTTGGAAGTCT CAAAATGGAAGGTTATACTCTATAAAATCAACCAAAATGTT GATCCATCCAACAGATTCAGAAAGCTTTGAA
52	Trình tự axit nucleic 233KS	GAAATAAGAAATGTAAAACATGATGGCATTCTGCTGAATG TACCACCATTATAACAGAGGTGAACATACAAGTGGCATGT ATGCCATCAGACCCAGCAACTCTCAAGTTTTTCATGTCTACT GTGATGTTATATCAGGTAGTCCATGGACATTAATTCAACAT CGAATAGATGGATCACAAAACCTTCAATGAAACGTGGGAGA ACTACAAATATGGTTTTGGGAGGCTTGATGGAGAATTTTGG TTGGGCCTAGAGAAGATATACTCCATAGTGAAGCAATCTAA TTATGTTTTACGAATTGAGTTGGAAGACTGGAAAGACAACA AACATTATATTGAATATTCTTTTTACTTGGGAAATCACGAA ACCAACTATACGCTACATCTAGTTGCGATTACTGGCAATGT CCCCAATGCAATCCCGGAAAACAAAGATTTGGTGTTTTCTA CTTGGGATCACAAAGCAAAAGGACACTTCAACTGTCCAGA GGGTATTTCAGGAGGCTGGTGGTGGCATGATGAGTGTGGAG AAAACAACCTAAATGGTAAATATAACAAACCAAGAGCAAG CTCTAAGCCAGAGAGGAGAAGAGGATTATCTTGGAAGTCTC AAAATGGAAGGTTATACTCTATAAAATCAACCAAAATGTTG ATCCATCCAACAGATTCAGAAAGCTTTGAA

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
53	Trình tự axit nucleic 241KQ	GGCATTTCCTGCTGAATGTACCACCATTATAACAGAGGTGA ACATACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAGCAACTCTC AAGTTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGGTAGTCCAT GGACATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCACAAAACCTTC AATGAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTTGGGAGGC TTGATGGAGAATTTTGGTTGGGCCTAGAGAAGATATACTCC ATAGTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAATTGAGTTGGA AGACTGGAAAGACAACAACATTATATTGAATATTCTTTTT ACTTGGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTACATCTAGTT GCGATTACTGGCAATGTCCCAATGCAATCCCGGAAAACAA AGATTTGGTGTCTTCTACTTGGGATCACAAAGCAAAAGGAC ACTTCAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCTGGTGGTGG CATGATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAATGGTAAATATA ACAAACCAAGAGCACAATCTAAGCCAGAGAGGAGAAGAGG ATTATCTTGGAAGTCTCAAAATGGAAGGTTATACTCTATAA AATCAACCAAAAATGTTGATCCATCCAACAGATTCAGAAAGC TTTGAA
54	Trình tự axit nucleic 241KS	GGCATTTCCTGCTGAATGTACCACCATTATAACAGAGGTGA ACATACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAGCAACTCTC AAGTTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGGTAGTCCAT GGACATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCACAAAACCTTC AATGAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTTGGGAGGC TTGATGGAGAATTTTGGTTGGGCCTAGAGAAGATATACTCC ATAGTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAATTGAGTTGGA AGACTGGAAAGACAACAACATTATATTGAATATTCTTTTT ACTTGGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTACATCTAGTT GCGATTACTGGCAATGTCCCAATGCAATCCCGGAAAACAA AGATTTGGTGTCTTCTACTTGGGATCACAAAGCAAAAGGAC ACTTCAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCTGGTGGTGG CATGATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAATGGTAAATATA ACAAACCAAGAGCAAGCTCTAAGCCAGAGAGGAGAAGAGG ATTATCTTGGAAGTCTCAAAATGGAAGGTTATACTCTATAA AATCAACCAAAAATGTTGATCCATCCAACAGATTCAGAAAGC TTTGAA

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
55	Trình tự axit nucleic 242KQ	ATTCCTGCTGAATGTACCACCATTTATAACAGAGGTGAACA TACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAGCAACTCTCAAG TTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGGTAGTCCATGGA CATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCACAAAACCTTCAAT GAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTTGGGAGGCTTG ATGGAGAATTTTGGTTGGGCCTAGAGAAGATATACTCCATA GTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAATTGAGTTGGAAGA CTGGAAAGACAACAAACATTATATTGAATATTCTTTTTACTT GGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTACATCTAGTTGCGA TTAAGTGGCAATGTCCCCAATGCAATCCCGGAAAACAAAGAT TTGGTGTTTTCTACTTGGGATCACAAAGCAAAAGGACACTT CAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCTGGTGGTGGCATG ATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAATGGTAAATATAACAA ACCAAGAGCACAATCTAAGCCAGAGAGGAGAAGAGGATTA TCTTGGAAGTCTCAAAATGGAAGGTTATACTCTATAAAATC AACCAAAATGTTGATCCATCCAACAGATTCAGAAAGCTTTG AA
56	Trình tự axit nucleic 242KS	ATTCCTGCTGAATGTACCACCATTTATAACAGAGGTGAACA TACAAGTGGCATGTATGCCATCAGACCCAGCAACTCTCAAG TTTTTCATGTCTACTGTGATGTTATATCAGGTAGTCCATGGA CATTAATTCAACATCGAATAGATGGATCACAAAACCTTCAAT GAAACGTGGGAGAACTACAAATATGGTTTTGGGAGGCTTG ATGGAGAATTTTGGTTGGGCCTAGAGAAGATATACTCCATA GTGAAGCAATCTAATTATGTTTTACGAATTGAGTTGGAAGA CTGGAAAGACAACAAACATTATATTGAATATTCTTTTTACTT GGGAAATCACGAAACCAACTATACGCTACATCTAGTTGCGA TTAAGTGGCAATGTCCCCAATGCAATCCCGGAAAACAAAGAT TTGGTGTTTTCTACTTGGGATCACAAAGCAAAAGGACACTT CAACTGTCCAGAGGGTTATTCAGGAGGCTGGTGGTGGCATG ATGAGTGTGGAGAAAACAACCTAAATGGTAAATATAACAA ACCAAGAGCAAGCTCTAAGCCAGAGAGGAGAAGAGGATTA TCTTGGAAGTCTCAAAATGGAAGGTTATACTCTATAAAATC AACCAAAATGTTGATCCATCCAACAGATTCAGAAAGCTTTG AA

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
57	Trình tự axit nucleic c227KQ	TTTTTGCATCTCAACGAAACGAAGAATGTCGAACACAACGA CATTCCGGCAAATTGCACAACCTATCTACAATAGAGGGCGAAC ATACGTCCGGTATCTACTCCATTAGACCTTCAAACAGCCAG GTATTCAATGTGTACTGCGATGTAAAGTCAGGATCGTCATG GACACTGATCCAGCATAGGATCGACGGGTCCCAGAACTTCA ACGAGACATGGGAGAACTACCGCTATGGATTTGGAAGGCT GGATGGGGGAGTTCTGGTTGGGACTTGAGAAAATCTACAGCA TTGTGAAGCAGTCGAACCTACATTCTCCGGATTGAACTGGAG GACTGGAATGACAACAAACACTACATCGAGTATTTCTTTCA TCTCGGCAACCATGAAACGAATTACACCTTGCACCTTGTGG AAATCACGGGCAACATTTTGAACGCGCTGCCAGAACACAA AGACCTGGTGTTCGACATGGGATCACAAAGCAAAGGGG CACGTGAACTGTCCCGAATCATATAGCGGGGGATGGTGGTG GCACAATGTCTGTGGTGAGAACAACTCAACGGGAAATAC AATAAGCAGCGAGCTCAGACGAAACCCGAGCGGCGGAGAG GTCTGTATTGGAAGTCGCAGAATGGACGCCTGTATTCGATC AAATCGACGAAAATGCTCATCCACCCCATCGACTCCGAATC GTCGGAG
58	207Kdel	IQEPTEISLSSKPRAPRTTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRG EHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNE TWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWK DNKHYIEYSFYLGHNHETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFS TWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPR ASKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
59	225Kdel	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG HETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKS QNGRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
60	226Kdel	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG HETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQ NRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE
61	228Kdel	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG HETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQ NRLYSIKSTKMLIHPTDSESFE

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
62	233Kdel	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCD VISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLE KIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGW WWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNGRLYSI KSTKMLIHPTDSESE
63	241Kdel	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGE NNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHP TDESESE
64	242Kdel	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLI QHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECGE NNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHP TDESESE
65	225- 455Kdel	TTPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQ VFHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLD GEFWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLG NETNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCP EGYSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKS QNGRLYSIKSTKMLIHPTD
66	226- 455Kdel	TPFLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQV FHVYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGE FWLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNE TNYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEG YSGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQN GRLYSIKSTKMLIHPTD
67	228- 455Kdel	FLQLNEIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFH VYCDVISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEF WLGLEKIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNET NYTLHLVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGY SGGWWWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNG RLYSIKSTKMLIHPTD
68	233- 455Kdel	EIRNVKHDGIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCD VISGSPWTLIQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLE KIYSIVKQSNYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNETNYTLH LVAITGNVPNAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGW WWHDECGENNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNGRLYSI KSTKMLIHPTD

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
69	241- 455Kdel	GIPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTL IQHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECCE NNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHP TD
70	242- 455Kdel	IPAECTTIYNRGEHTSGMYAIRPSNSQVFHVYCDVISGSPWTLI QHRIDGSQNFNETWENYKYGFGRLDGEFWLGLEKIYSIVKQS NYVLRIELEDWKDNKHYIEYSFYLGNETNYTLHLVAITGNVP NAIPENKDLVFSTWDHKAKGHFNCPEGYSGGWWWHDECCE NNLNGKYNKPRASKPERRRGLSWKSQNGRLYSIKSTKMLIHP TD
71	hANGPTL 1 1-491	MKTFTWTLGVLFFLLVDTGHCRGGQFKIKKINQRRYPRATDGK EEAKKCAYTFLVPEQRITGPICVNTKGQDASTIKDMITRMDLEN LKDVLSRQKREIDVLQLVVDVDGNIVNEVKLLRKESRNMNSR VTQLYMQLLHEIIRKRDNSLELSQLENKILNVTTEMLKMATRY RELEVKYASLTDLVNNQSVMITLLEEQLRIFSRQDTHVSPPLV QVVPQHIPSQQYTPGLLGGNEIQRDPGYPRDLMPPDLATSPT KSPFKIPPVTFINEGPFKDCQQAKEAGHSVSGIYMIKPENSNGP MQLWCENSLDPGGWTVIQKRTDGSVNFFRNWENYKKGFGNID GEYWLGLENIYMLSNQDNYKLLIELEDWSDKKVYAEYSSFRLE PESEFYRLRLGTYYQGNAGDSMMWHNGKQFTTLDRDKDMYAG NCAHFHKGGWWYNACAHSNLNGVWYRGGHYRSKHQDGIFW AEYRGGSYS LRAVQMMIKPID
72	CT hANGPTL 1 271-491	FINEGPFKDCQQAKEAGHSVSGIYMIKPENSNGPMQLWCENSL DPGGWTVIQKRTDGSVNFFRNWENYKKGFGNIDGEYWLGLEN IYMLSNQDNYKLLIELEDWSDKKVYAEYSSFRLEPESEFYRLRL GTYYQGNAGDSMMWHNGKQFTTLDRDKDMYAGNCAHFHKGG WWYNACAHSNLNGVWYRGGHYRSKHQDGIFWAEYRGGSYS LRAVQMMIKPID
73	hANGPTL 4 1-406	MSGAPTAGAALMLCAATAVLLSAQGGPVQSKSPRFASWDEM NVLAHGLLQLGQGLREHAERTRSLSALERRLSACGSACQGTE GSTDLPLAPESRVDPEVLHSLQTQLKAQNSRIQQLFHKVAQQQ RHLEKQHLRIQHLQSQFGLLDHKHLDHEVAKPARRKRLPEMA QPVDPAHNVSRLHRLPRDCQELFQVGERQSGLFEIQPGSPFL VNCKMTSDGGWTVIQRRHDGSVDNFNRPWEAYKAGFGDPHGE FWLGLEKVHSITGDRNSRLAVQLRDWDGNAELLQFSVHLGGE DTAYSLQLTAPVAGQLGATTVPPSGLSVPFSTWDQDHLRRDK NCAKSLSGGWWFGTCSHSNLNGQYFRSIPQQRQKLKKGIFWK TWRGRYYPLQATTMLIQPMAAEAAAS

SE Q ID	Cấu trúc	Trình tự
74	CT hANGPTL 4 179-406	SRLHRLPRDCQELFQVGERQSGLFEIQPQGSPFLVNCKMTSDG GWTVIQRRHDGSVDFNRPWEAYKAGFGDPHGEFWLGLEKVH SITGDRNSRLAVQLRDWDGNAELLQFSVHLGGEDTAYSLQLTA PVAGQLGATTVPPSGLSVPFSTWDQDHDLRDKNCAKSLSGG WWFGTCSHSNLNGQYFRSIPQQRQKLKKGIFWKTWRGRYYPL QATTMLIQPMAAEAAS

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Polypeptit phân lập được chứa trình tự axit amin có độ tương đồng về trình tự axit amin ít nhất là 95% so với trình tự axit amin được chọn từ nhóm các trình tự ở bảng 1, trong đó polypeptit này chứa axit amin là axit amin phân cực ngoại trừ K hoặc R ở vị trí 423, như được xác định với sự tham chiếu đến SEQ ID NO:1 và trong đó polypeptit này có hoạt tính tạo sụn.

2. Polypeptit theo điểm 1, trong đó polypeptit này chứa trình tự axit amin có độ tương đồng về trình tự axit amin ít nhất là 95% so với trình tự axit amin của trình tự bất kỳ nêu trong: (i) SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, hoặc SEQ ID NO:70; hoặc (ii) SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, hoặc SEQ ID NO:64.

3. Polypeptit theo điểm 1, trong đó polypeptit này chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ nêu trong: (i) SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, hoặc SEQ ID NO:70; hoặc (ii) SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, hoặc SEQ ID NO:64.

4. Polypeptit theo điểm 3, trong đó polypeptit này chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 28.

5. Polypeptit theo điểm 1, trong đó polypeptit này bao gồm trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ nêu trong: (i) SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69 và SEQ ID NO:70; hoặc (ii) SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, hoặc SEQ ID NO:64.

6. Polypeptit theo điểm 5, trong đó polypeptit này bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:28.

7. Polypeptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3 và 5, trong đó axit amin ở vị trí 423 là Q hoặc S hoặc axit amin ở vị trí 423 bị loại bỏ.

8. Polypeptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó polypeptit này được PEGyl hóa.

9. Polypeptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó polypeptit này được dung hợp với bất kỳ loại nào trong số albumin huyết thanh của người (HSA), vùng cố định trên chuỗi nặng của globulin miễn dịch (Fc), polyhistidin, glutathion S transferaza (GST), thioredoxin, protein A, protein G, hoặc protein gắn kết maltoza (MBP), hoặc mảnh của nó và trong đó peptit được dung hợp ở đầu amino của polypeptit này hoặc ở đầu carboxy của polypeptit này.

10. Dược phẩm chứa polypeptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9.

11. Dược phẩm theo điểm 10, trong đó dược phẩm này còn chứa axit hyaluronic hoặc dẫn xuất của nó, hoặc còn chứa chất được chọn từ nhóm bao gồm canxitonin cá hồi dùng qua đường miệng, SD-6010 (chất ức chế iNOS), vitamin D3 (cholecanxiferol),

colagen hydrolyzat, FGF18, BMP7, rusalatit axetat, các chất không xà phòng hóa từ quả bơ/đậu nành (ASU), kartogenin, steroid và chất kháng viêm không phải steroid (NSAID).

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> JOHNSON, Kristen
SHI, Jian

<120> Polypeptit phân lập được, dược phẩm chứa polypeptit này dùng để điều trị bệnh viêm khớp

<130> PAT055625

<150> 61/775400

<151> 2013-03-08

<150> 61/938123

<151> 2014-02-10

<160> 74

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 460

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Phe Thr Ile Lys Leu Leu Leu Phe Ile Val Pro Leu Val
Ile Ser

1 5 10 15

Ser Arg Ile Asp Gln Asp Asn Ser Ser Phe Asp Ser Leu Ser
Pro Glu

20 25 30

Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu
Ala Asn

35 40 45

Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His
Lys Thr

50 55 60

Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe
 Asp Gln
 65 70 75
 80

Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Ser Glu Ile Lys Glu
 Glu Glu
 85 90 95

Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Tyr Lys Leu Gln Val Lys Asn
 Glu Glu
 100 105 110

Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser
 Leu Leu
 115 120 125

Glu Glu Lys Ile Leu Leu Gln Gln Lys Val Lys Tyr Leu Glu
 Glu Gln
 130 135 140

Leu Thr Asn Leu Ile Gln Asn Gln Pro Glu Thr Pro Glu His
 Pro Glu
 145 150 155
 160

Val Thr Ser Leu Lys Thr Phe Val Glu Lys Gln Asp Asn Ser
 Ile Lys
 165 170
 175

Asp Leu Leu Gln Thr Val Glu Asp Gln Tyr Lys Gln Leu Asn
 Gln Gln
 180 185 190

His Ser Gln Ile Lys Glu Ile Glu Asn Gln Leu Arg Arg Thr
 Ser Ile
 195 200 205

Gln Glu Pro Thr Glu Ile Ser Leu Ser Ser Lys Pro Arg Ala
 Pro Arg
 210 215 220

Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys
 His Asp
 225 230 235
 240

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr
 245 250
 255

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
 His Val
 260 265 270

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 275 280 285

Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr
 Lys Tyr
 290 295 300

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 305 310 315
 320

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
 Leu Glu
 325 330
 335

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

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
 Gly Asn
 355 360 365

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 370 375 380

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 385 390 395
 400

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 405 410
 415

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Lys Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 420 425 430

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 435 440 445

Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 450 455 460

<210> 2
 <211> 2126
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 2
 ttccagaaga aaacagttcc acgttgcttg aaattgaaaa tcaagataaa
 aatgttcaca 60

attaagctcc ttctttttat tgttcctcta gttatttcct ccagaattga
 tcaagacaat 120

tcatcatttg	attctctatc	tccagagcca	aatcaagat	ttgctatggt
agacgatgta	180			
aaaatttttag	ccaatggcct	ccttcagttg	ggacatgggc	ttaaagactt
tgtccataag	240			
acgaagggcc	aaattaatga	catattttcaa	aaactcaaca	tatttgatca
gtcttttttat	300			
gatctatcgc	tgcaaaccag	tgaaatcaaa	gaagaagaaa	aggaactgag
aagaactaca	360			
tataaactac	aagtcaaaaa	tgaagaggta	aagaatatgt	cacttgaact
caactcaaaa	420			
cttgaaagcc	tcctagaaga	aaaaatttcta	cttcaacaaa	aagtgaaata
tttagaagag	480			
caactaacta	acttaattca	aatcaacct	gaaactccag	aacaccgaga
agtaacttca	540			
cttaaaactt	ttgtagaaaa	acaagataat	agcatcaaag	accttctcca
gaccgtggaa	600			
gaccaatata	aacaattaaa	ccaacagcat	agtcaaataa	aagaaataga
aatcagctc	660			
agaaggacta	gtattcaaga	accacagaa	atttctctat	cttccaagcc
aagagcacca	720			
agaactactc	cctttcttca	gttgaatgaa	ataagaaatg	taaaacatga
tggcattcct	780			
gctgaatgta	ccaccattta	taacagaggt	gaacatacaa	gtggcatgta
tgccatcaga	840			
cccagcaact	ctcaagtttt	tcatgtctac	tgtgatgtta	tatcaggtag
tccatggaca	900			
ttaattcaac	atcgaataga	tggatcacia	aacttcaatg	aaacgtggga
gaactacaaa	960			
tatggttttg	ggaggcttga	tggagaattt	tggttgggcc	tagagaagat
atactccata	1020			
gtgaagcaat	ctaattatgt	tttacgaatt	gagttggaag	actggaaaga
caacaaacat	1080			

tatattgaat attcttttta cttgggaaat cacgaaacca actatacgct
acatctagtt 1140

gcgattactg gcaatgtccc caatgcaatc ccggaaaaca aagatttggt
gttttctact 1200

tgggatcaca aagcaaaagg acacttcaac tgtccagagg gttattcagg
aggctggtgg 1260

tggcatgatg agtgtggaga aaacaaccta aatggtaaata ataacaacc
aagagcaaaa 1320

tctaagccag agaggagaag aggattatct tggaagtctc aaaatggaag
gttatactct 1380

ataaaatcaa ccaaaatggt gatccatcca acagattcag aaagctttga
atgaactgag 1440

gcaaatttaa aaggcaataa tttaaactt aacctcattc caagttaatg
tggtctaata 1500

atctggtatt aaatccttaa gagaaagctt gagaaataga ttttttttat
cttaaagtca 1560

ctgtctatatt aagattaaac atacaatcac ataaccttaa agaataccgt
ttacatttct 1620

caatcaaaat tcttataata ctatttggtt taaattttgt gatgtgggaa
tcaatttttag 1680

atggtcacaa tctagattat aatcaatagg tgaacttatt aaataacttt
tctaaataaa 1740

aaatttagag acttttatatt taaaaggcat catatgagct aatatcacia
ctttcccagt 1800

ttaaaaaact agtactcttg ttaaaaactct aaacttgact aaatacagag
gactggtaat 1860

tgtacagttc ttaaagtgtg tagtattaat ttcaaaacta aaaatcgtca
gcacagagta 1920

tgtgtaaaaa tctgtaatac aaatttttaa actgatgctt catttttgcta
caaaataatt 1980

tggagtaaat gtttgatatg atttatattat gaaacctaata gaagcagaat
taaatactgt 2040

attaaaataa gttcgctgtc tttaaacaaa tggagatgac tactaagtca
cattgacttt 2100

aacatgaggt atcactatac cttatt
2126

<210> 3
<211> 455
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 3

Met His Thr Ile Lys Leu Phe Leu Phe Val Val Pro Leu Val
Ile Ala
1 5 10 15

Ser Arg Val Asp Pro Asp Leu Ser Ser Phe Asp Ser Ala Pro
Ser Glu
20 25 30

Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu
Ala Asn
35 40 45

Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His
Lys Thr
50 55 60

Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe
Asp Gln
65 70 75
80

Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Arg Thr Asn Glu Ile Lys Glu
Glu Glu
85 90 95

Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Ser Thr Leu Gln Val Lys Asn
Glu Glu
100 105 110

Val Lys Asn Met Ser Val Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser
 Leu Leu
 115 120 125

Glu Glu Lys Thr Ala Leu Gln His Lys Val Arg Ala Leu Glu
 Glu Gln
 130 135 140

Leu Thr Asn Leu Ile Leu Ser Pro Ala Gly Ala Gln Glu His
 Pro Glu
 145 150 155
 160

Val Thr Ser Leu Lys Ser Phe Val Glu Gln Gln Asp Asn Ser
 Ile Arg
 165 170
 175

Glu Leu Leu Gln Ser Val Glu Glu Gln Tyr Lys Gln Leu Ser
 Gln Gln
 180 185 190

His Met Gln Ile Lys Glu Ile Glu Lys Gln Leu Arg Lys Thr
 Gly Ile
 195 200 205

Gln Glu Pro Ser Glu Asn Ser Leu Ser Ser Lys Ser Arg Ala
 Pro Arg
 210 215 220

Thr Thr Pro Pro Leu Gln Leu Asn Glu Thr Glu Asn Thr Glu
 Gln Asp
 225 230 235
 240

Asp Leu Pro Ala Asp Cys Ser Ala Val Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr
 245 250
 255

Ser Gly Val Tyr Thr Ile Lys Pro Arg Asn Ser Gln Gly Phe
 Asn Val
 260 265 270

Tyr Cys Asp Thr Gln Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 275 280 285

Lys Asp Gly Ser Gln Asp Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr
 Glu Lys
 290 295 300

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 305 310 315
 320

Tyr Ala Ile Val Gln Gln Ser Asn Tyr Ile Leu Arg Leu Glu
 Leu Gln
 325 330
 335

Asp Trp Lys Asp Ser Lys His Tyr Val Glu Tyr Ser Phe His
 Leu Gly
 340 345 350

Ser His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Val Ala Glu Ile Ala
 Gly Asn
 355 360 365

Ile Pro Gly Ala Leu Pro Glu His Thr Asp Leu Met Phe Ser
 Thr Trp
 370 375 380

Asn His Arg Ala Lys Gly Gln Leu Tyr Cys Pro Glu Ser Tyr
 Ser Gly
 385 390 395
 400

Gly Trp Trp Trp Asn Asp Ile Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
Gly Lys

405

410

415

Tyr Asn Lys Pro Arg Thr Lys Ser Arg Pro Glu Arg Arg Arg
Gly Ile

420

425

430

Tyr Trp Arg Pro Gln Ser Arg Lys Leu Tyr Ala Ile Lys Ser
Ser Lys

435

440

445

Met Met Leu Gln Pro Thr Thr

450

455

<210> 4

<211> 459

<212> PRT

<213> Canis familiaris

<400> 4

Met Tyr Thr Ile Lys Leu Phe Leu Phe Ile Ile Pro Leu Val
Ile Ser

1

5

10

15

Ser Lys Ile Asp Arg Asp Tyr Ser Ser Tyr Asp Ser Val Ser
Pro Glu

20

25

30

Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu
Ala Asn

35

40

45

Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His
Lys Thr

50

55

60

Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe
Asp Gln

65
80

70

75

Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Asn Glu Ile Lys Glu
Glu Glu

85

90

95

Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Ser Lys Leu Gln Val Lys Asn
Glu Glu

100

105

110

Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Val Glu Ser
Leu Leu

115

120

125

Glu Glu Lys Ile Leu Leu Gln Gln Lys Val Arg Tyr Leu Glu
Lys Gln

130

135

140

Leu Thr Ser Leu Ile Lys Asn Gln Pro Glu Ile Gln Glu His
Pro Glu

145

150

155

160

Val Thr Ser Leu Lys Thr Phe Val Glu Gln Gln Asp Asn Ser
Ile Lys

165

170

175

Asp Leu Leu Gln Thr Val Glu Glu Gln Tyr Arg Gln Leu Asn
Gln Gln

180

185

190

His Ser Gln Ile Lys Glu Ile Glu Asn Gln Leu Arg Asn Val
Ile Gln

195

200

205

Glu Ser Thr Glu Asn Ser Leu Ser Ser Lys Pro Arg Ala Pro
Arg Thr

210

215

220

Thr Pro Phe Leu His Leu Asn Glu Thr Lys Asn Val Glu His
 Asn Asp
 225 230 235
 240

Ile Pro Ala Asn Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His
 Thr Ser
 245 250
 255

Gly Ile Tyr Ser Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe Asn
 Val Tyr
 260 265 270

Cys Asp Val Lys Ser Gly Ser Ser Trp Thr Leu Ile Gln His
 Arg Ile
 275 280 285

Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Arg
 Tyr Gly
 290 295 300

Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys
 Ile Tyr
 305 310 315
 320

Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Ile Leu Arg Ile Glu Leu
 Glu Asp
 325 330
 335

Trp Asn Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Phe Phe His Leu
 Gly Asn
 340 345 350

His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Glu Ile Thr Gly
 Asn Ile
 355 360 365

Leu Asn Ala Leu Pro Glu His Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr
 Trp Asp
 370 375 380

His Lys Ala Lys Gly His Val Asn Cys Pro Glu Ser Tyr Ser
 Gly Gly
 385 390 395
 400

Trp Trp Trp His Asn Val Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
 Lys Tyr
 405 410
 415

Asn Lys Gln Arg Ala Lys Thr Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Tyr
 420 425 430

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 435 440 445

Leu Ile His Pro Ile Asp Ser Glu Ser Ser Glu
 450 455

<210> 5
 <211> 469
 <212> PRT
 <213> Equus caballus

<400> 5

Met Tyr Thr Ile Lys Leu Phe Leu Val Ile Ala Pro Leu Val
 Ile Ser
 1 5 10 15

Ser Arg Ile Asp Gln Asp Tyr Ser Ser Leu Asp Ser Ile Pro
 Pro Glu
 20 25 30

Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu
 Ala Asn
 35 40 45

Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His
 Lys Thr
 50 55 60

Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe
 Asp Gln
 65 70 75
 80

Ser Phe Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Thr Asn Glu Ile Lys Glu
 Glu Glu
 85 90 95

Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Ser Lys Leu Gln Val Lys Asn
 Glu Glu
 100 105 110

Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser
 Leu Leu
 115 120 125

Glu Glu Lys Ser Leu Leu Gln Gln Lys Val Lys Tyr Leu Glu
 Glu Gln
 130 135 140

Leu Thr Lys Leu Ile Lys Asn Gln Pro Glu Ile Gln Glu His
 Pro Glu
 145 150 155
 160

Val Thr Ser Leu Lys Thr Phe Val Glu Gln Gln Asp Asn Ser
 Ile Lys
 165 170
 175

Asp Leu Leu Gln Thr Met Glu Glu Gln Tyr Arg Gln Leu Asn
 Gln Gln
 180 185 190

His Ser Gln Ile Lys Glu Ile Glu Asn Gln Leu Arg Arg Thr
 Gly Ile
 195 200 205

Gln Glu Ser Thr Glu Asn Ser Leu Ser Ser Lys Pro Arg Ala
 Pro Arg
 210 215 220

Thr Thr Pro Ser Phe His Leu Asn Glu Thr Lys Asp Val Glu
 His Asp
 225 230 235
 240

Asp Phe Pro Ala Asp Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr
 245 250
 255

Ser Gly Ile Tyr Ser Ile Lys Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
 Asn Val
 260 265 270

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Ser Trp Ile Leu Ile Gln
 Arg Arg
 275 280 285

Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Gln Asn Tyr
 Lys Tyr
 290 295 300

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Phe Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 305 310 315
 320

Tyr Ser Ile Val Lys Arg Ser Asn Tyr Ile Leu Arg Ile Glu
Leu Glu

325

330

335

Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Thr Ile Glu Tyr Ser Phe His
Leu Gly

340

345

350

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Glu Ile Thr
Gly Asn

355

360

365

Val Pro Asn Ala Leu Pro Glu His Lys Asp Leu Val Phe Ser
Thr Trp

370

375

380

Asp His Lys Ala Lys Gly Gln Leu Asn Cys Leu Glu Ser Tyr
Ser Gly

385

390

395

400

Gly Trp Trp Trp His Asp Val Cys Gly Gly Asp Asn Pro Asn
Gly Lys

405

410

415

Tyr Asn Lys Pro Arg Ser Lys Thr Lys Pro Glu Arg Arg Arg
Gly Ile

420

425

430

Cys Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Thr Ile Lys Ser
Thr Lys

435

440

445

Met Leu Ile His Pro Ile Asp Ser Glu Ser Phe Glu Leu Arg
Gln Ile

450

455

460

Lys Lys Pro Met Asn

465

<210> 6
 <211> 459
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<400> 6

Met Tyr Thr Ile Lys Leu Phe Leu Ile Ile Ala Pro Leu Val
 Ile Ser
 1 5 10 15

Ser Arg Thr Asp Gln Asp Tyr Thr Ser Leu Asp Ser Ile Ser
 Pro Glu
 20 25 30

Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu
 Ala Asn
 35 40 45

Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His
 Lys Thr
 50 55 60

Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe
 Asp Gln
 65 70 75
 80

Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Asn Glu Ile Lys Glu
 Glu Glu
 85 90 95

Lys Glu Leu Arg Arg Ala Thr Ser Lys Leu Gln Val Lys Asn
 Glu Glu
 100 105 110

Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asp Ser Lys Leu Glu Ser
 Leu Leu
 115 120 125

Glu Glu Lys Ile Leu Leu Gln Gln Lys Val Arg Tyr Leu Glu
 Asp Gln
 130 135 140

Leu Thr Asp Leu Ile Lys Asn Gln Pro Gln Ile Gln Glu Tyr
 Leu Glu
 145 150 155
 160

Val Thr Ser Leu Lys Thr Leu Val Glu Gln Gln Asp Asn Ser
 Ile Lys
 165 170
 175

Asp Leu Leu Gln Ile Val Glu Glu Gln Tyr Arg Gln Leu Asn
 Gln Gln
 180 185 190

Gln Ser Gln Ile Lys Glu Ile Glu Asn Gln Leu Arg Arg Thr
 Gly Ile
 195 200 205

Lys Glu Ser Thr Glu Ile Ser Leu Ser Ser Lys Pro Arg Ala
 Pro Arg
 210 215 220

Thr Thr Pro Ser Phe His Ser Asn Glu Thr Lys Asn Val Glu
 His Asp
 225 230 235
 240

Asp Ile Pro Ala Asp Cys Thr Ile Ile Tyr Asn Gln Gly Lys
 His Thr
 245 250
 255

Ser Gly Ile Tyr Ser Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
 Asn Val
 260 265 270

Tyr Cys Asp Val Lys Ser Gly Ser Ser Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 275 280 285

Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr
 Lys Tyr
 290 295 300

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 305 310 315
 320

Tyr Ser Ile Val Met Gln Ser Asn Tyr Ile Leu Arg Ile Glu
 Leu Glu
 325 330
 335

Asp Trp Lys Asp Lys Tyr Tyr Thr Glu Tyr Ser Phe His Leu
 Gly Asp
 340 345 350

His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Ala Glu Ile Ser Gly
 Asn Gly
 355 360 365

Pro Lys Ala Phe Pro Glu His Lys Asp Leu Met Phe Ser Thr
 Trp Asp
 370 375 380

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Ser Asn Ser
 Gly Gly
 385 390 395
 400

Trp Trp Tyr His Asp Val Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
 Lys Tyr
 405 410
 415

Asn Lys Pro Lys Ala Lys Ala Lys Pro Glu Arg Lys Glu Gly
 Ile Cys
 420 425 430

Trp Lys Ser Gln Asp Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ala Thr
 Lys Met
 435 440 445

Leu Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Asn Ser Glu
 450 455

<210> 7
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 7

Ile Gln Glu Pro Thr Glu Ile Ser Leu Ser Ser Lys Pro Arg
 Ala Pro
 1 5 10 15

Arg Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val
 Lys His
 20 25 30

Asp Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly
 Glu His
 35 40 45

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

Val Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile
 Gln His
 65 70 75
 80

26345

Arg Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn
Tyr Lys
85 90 95

Tyr Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu
Glu Lys
100 105 110

Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile
Glu Leu
115 120 125

Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe
Tyr Leu
130 135 140

Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile
 Thr Gly
 145 150 155
 160

Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe
Ser Thr
165 170
175

Trp Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly
Tyr Ser

180 185 190

Gly Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu
Asn Gly
195 200 205

Lys Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Lys Ser Lys Pro Glu Arg Arg
Arg Gly
210 215 220

Leu Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys
Ser Thr

225
240

230

235

Lys Met Leu Ile His Pro Thr Asp
245

<210> 8
<211> 231
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys
His Asp
1 5 10 15

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
His Thr
20 25 30

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
His Val
35 40 45

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
His Arg
50 55 60

Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr
Lys Tyr
65 70 75
80

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
Lys Ile
85 90 95

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
Leu Glu
100 105 110

Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr
 Leu Gly
 115 120 125

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
 Gly Asn
 130 135 140

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 145 150 155
 160

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 165 170
 175

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 180 185 190

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Lys Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 195 200 205

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 210 215 220

Met Leu Ile His Pro Thr Asp
 225 230

<210> 9
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 9

Phe	Leu	Gln	Leu	Asn	Glu	Ile	Arg	Asn	Val	Lys	His	Asp	Gly	
Ile	Pro													
1				5					10					15
Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu	His	Thr	Ser	
Gly	Met													
			20					25					30	
Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe	His	Val	Tyr	
Cys	Asp													
		35					40					45		
Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln	His	Arg	Ile	
Asp	Gly													
	50					55					60			
Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr	Lys	Tyr	Gly	
Phe	Gly													
65					70					75				
80														
Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	Lys	Ile	Tyr	
Ser	Ile													
				85					90					95
Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu	Leu	Glu	Asp	
Trp	Lys													
			100					105					110	
Asp	Asn	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Leu	Gly	Asn	
His	Glu													
		115					120					125		
Thr	Asn	Tyr	Thr	Leu	His	Leu	Val	Ala	Ile	Thr	Gly	Asn	Val	
Pro	Asn													
	130					135					140			
Ala	Ile	Pro	Glu	Asn	Lys	Asp	Leu	Val	Phe	Ser	Thr	Trp	Asp	
His	Lys													

145
160

150

155

Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly
Trp Trp

165

170

175

Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr
Asn Lys

180

185

190

Pro Arg Ala Lys Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser
Trp Lys

195

200

205

Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met
Leu Ile

210

215

220

His Pro Thr Asp
225

<210> 10
<211> 223
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly Ile Pro Ala Glu Cys
Thr Thr

1

5

10

15

Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser Gly Met Tyr Ala Ile
Arg Pro

20

25

30

Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val Tyr Cys Asp Val Ile Ser
Gly Ser

35

40

45

Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile Asp Gly Ser Gln Asn
Phe Asn
50 55 60

Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr Gly Phe Gly Arg Leu Asp
Gly Glu
65 70 75
80

Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln
Ser Asn
85 90 95

Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys
His Tyr
100 105 110

Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr
Thr Leu
115 120 125

His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro
Glu Asn
130 135 140

Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp His Lys Ala Lys Gly
His Phe
145 150 155
160

Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly Trp Trp Trp His Asp
Glu Cys
165 170
175

Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr Asn Lys Pro Arg Ala
Lys Ser
180 185 190

Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser Trp Lys Ser Gln Asn
 Gly Arg
 195 200 205

Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met Leu Ile His Pro Thr
 Asp
 210 215 220

<210> 11
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 11

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr
 1 5 10 15

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
 His Val
 20 25 30

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 35 40 45

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

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 65 70 75
 80

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
 Leu Glu
 85 90 95

Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr
 Leu Gly
 100 105 110

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
 Gly Asn
 115 120 125

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 130 135 140

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 145 150 155
 160

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 165 170
 175

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Lys Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 180 185 190

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 195 200 205

Met Leu Ile His Pro Thr Asp
 210 215

<210> 12
 <211> 460
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> K423Q

<400> 12

Met Phe Thr Ile Lys Leu Leu Leu Phe Ile Val Pro Leu Val
Ile Ser

1 5 10 15

Ser Arg Ile Asp Gln Asp Asn Ser Ser Phe Asp Ser Leu Ser
Pro Glu

20 25 30

Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu
Ala Asn

35 40 45

Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His
Lys Thr

50 55 60

Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe
Asp Gln

65 70 75
80

Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Ser Glu Ile Lys Glu
Glu Glu

85 90 95

Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Tyr Lys Leu Gln Val Lys Asn
Glu Glu

100 105 110

Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser
Leu Leu

115 120 125

Glu Glu Lys Ile Leu Leu Gln Gln Lys Val Lys Tyr Leu Glu
Glu Gln

130 135 140

Leu Thr Asn Leu Ile Gln Asn Gln Pro Glu Thr Pro Glu His
 Pro Glu
 145 150 155
 160

Val Thr Ser Leu Lys Thr Phe Val Glu Lys Gln Asp Asn Ser
 Ile Lys
 165 170
 175

Asp Leu Leu Gln Thr Val Glu Asp Gln Tyr Lys Gln Leu Asn
 Gln Gln
 180 185 190

His Ser Gln Ile Lys Glu Ile Glu Asn Gln Leu Arg Arg Thr
 Ser Ile
 195 200 205

Gln Glu Pro Thr Glu Ile Ser Leu Ser Ser Lys Pro Arg Ala
 Pro Arg
 210 215 220

Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys
 His Asp
 225 230 235
 240

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr
 245 250
 255

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
 His Val
 260 265 270

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 275 280 285

Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr
 Lys Tyr
 290 295 300

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 305 310 315
 320

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
 Leu Glu
 325 330
 335

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

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
 Gly Asn
 355 360 365

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 370 375 380

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 385 390 395
 400

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 405 410
 415

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Gln Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 420 425 430

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 435 440 445

Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 450 455 460

<210> 13
 <211> 460
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> K423S

<400> 13

Met Phe Thr Ile Lys Leu Leu Leu Phe Ile Val Pro Leu Val
 Ile Ser
 1 5 10 15

Ser Arg Ile Asp Gln Asp Asn Ser Ser Phe Asp Ser Leu Ser
 Pro Glu
 20 25 30

Pro Lys Ser Arg Phe Ala Met Leu Asp Asp Val Lys Ile Leu
 Ala Asn
 35 40 45

Gly Leu Leu Gln Leu Gly His Gly Leu Lys Asp Phe Val His
 Lys Thr
 50 55 60

Lys Gly Gln Ile Asn Asp Ile Phe Gln Lys Leu Asn Ile Phe
 Asp Gln
 65 70 75
 80

Ser Phe Tyr Asp Leu Ser Leu Gln Thr Ser Glu Ile Lys Glu
 Glu Glu
 85 90 95

Lys Glu Leu Arg Arg Thr Thr Tyr Lys Leu Gln Val Lys Asn
 Glu Glu
 100 105 110

Val Lys Asn Met Ser Leu Glu Leu Asn Ser Lys Leu Glu Ser
 Leu Leu
 115 120 125

Glu Glu Lys Ile Leu Leu Gln Gln Lys Val Lys Tyr Leu Glu
 Glu Gln
 130 135 140

Leu Thr Asn Leu Ile Gln Asn Gln Pro Glu Thr Pro Glu His
 Pro Glu
 145 150 155
 160

Val Thr Ser Leu Lys Thr Phe Val Glu Lys Gln Asp Asn Ser
 Ile Lys
 165 170
 175

Asp Leu Leu Gln Thr Val Glu Asp Gln Tyr Lys Gln Leu Asn
 Gln Gln
 180 185 190

His Ser Gln Ile Lys Glu Ile Glu Asn Gln Leu Arg Arg Thr
 Ser Ile
 195 200 205

Gln Glu Pro Thr Glu Ile Ser Leu Ser Ser Lys Pro Arg Ala
 Pro Arg
 210 215 220

Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys
 His Asp
 225 230 235
 240

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
His Thr

245

250

255

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
His Val

260

265

270

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
His Arg

275

280

285

Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr
Lys Tyr

290

295

300

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
Lys Ile

305

310

315

320

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
Leu Glu

325

330

335

Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr
Leu Gly

340

345

350

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
Gly Asn

355

360

365

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
Thr Trp

370

375

380

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 385 390 395
 400

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 405 410
 415

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 420 425 430

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 435 440 445

Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 450 455 460

<210> 14
 <211> 253
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 207-460 K423Q

<400> 14

Ile Gln Glu Pro Thr Glu Ile Ser Leu Ser Ser Lys Pro Arg
 Ala Pro
 1 5 10 15

Arg Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val
 Lys His
 20 25 30

Asp Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly
 Glu His
 35 40 45

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

Val Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile
 Gln His
 65 70 75
 80

Arg Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn
 Tyr Lys
 85 90 95

Tyr Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu
 Glu Lys
 100 105 110

Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile
 Glu Leu
 115 120 125

Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe
 Tyr Leu
 130 135 140

Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile
 Thr Gly
 145 150 155
 160

Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe
 Ser Thr
 165 170
 175

Trp Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly
 Tyr Ser
 180 185 190

Gly Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu
 Asn Gly
 195 200 205

Lys Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Gln Ser Lys Pro Glu Arg Arg
 Arg Gly
 210 215 220

Leu Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys
 Ser Thr
 225 230 235
 240

Lys Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 245 250

<210> 15
 <211> 253
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 207-460 K423S

<400> 15

Ile Gln Glu Pro Thr Glu Ile Ser Leu Ser Ser Lys Pro Arg
 Ala Pro
 1 5 10 15

Arg Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val
 Lys His
 20 25 30

Asp Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly
 Glu His
 35 40 45

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

Val Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile
 Gln His
 65 70 75
 80

Arg Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn
 Tyr Lys
 85 90 95

Tyr Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu
 Glu Lys
 100 105 110

Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile
 Glu Leu
 115 120 125

Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe
 Tyr Leu
 130 135 140

Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile
 Thr Gly
 145 150 155
 160

Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe
 Ser Thr
 165 170
 175

Trp Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly
 Tyr Ser
 180 185 190

Gly Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu
 Asn Gly
 195 200 205

Lys Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg
 Arg Gly
 210 215 220

Leu Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys
 Ser Thr
 225 230 235
 240

Lys Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 245 250

<210> 16
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 225-460 K423Q

<400> 16

Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys
 His Asp
 1 5 10 15

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr
 20 25 30

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
 His Val
 35 40 45

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 50 55 60

Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr
 Lys Tyr

65		70		75
80				
Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu				
Lys Ile				
	85		90	95
Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu				
Leu Glu				
	100		105	110
Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr				
Leu Gly				
	115		120	125
Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr				
Gly Asn				
	130		135	140
Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser				
Thr Trp				
145		150		155
160				
Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr				
Ser Gly				
	165		170	
175				
Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn				
Gly Lys				
	180		185	190
Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Gln Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg				
Gly Leu				
	195		200	205
Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser				
Thr Lys				
	210		215	220

Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
225 230 235

<210> 17
<211> 236
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 225-460 K423S

<400> 17

Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys
His Asp
1 5 10 15

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
His Thr
20 25 30

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
His Val
35 40 45

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
His Arg
50 55 60

Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr
Lys Tyr
65 70 75
80

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
Lys Ile
85 90 95

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
Leu Glu

	100		105		110
Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr					
Leu Gly					
	115		120		125
Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr					
Gly Asn					
	130		135		140
Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser					
Thr Trp					
145		150		155	
160					
Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr					
Ser Gly					
	165		170		
175					
Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn					
Gly Lys					
	180		185		190
Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg					
Gly Leu					
	195		200		205
Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser					
Thr Lys					
	210		215		220
Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu					
225		230		235	

<210> 18
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 225-460 S424T

<400> 18

Thr	Thr	Pro	Phe	Leu	Gln	Leu	Asn	Glu	Ile	Arg	Asn	Val	Lys	
His	Asp													
1				5					10				15	

Gly	Ile	Pro	Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu	
His	Thr													
			20					25					30	

Ser	Gly	Met	Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe	
His	Val													
		35					40					45		

Tyr	Cys	Asp	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln	
His	Arg													
	50					55					60			

Ile	Asp	Gly	Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr	
Lys	Tyr													
65					70					75				
80														

Gly	Phe	Gly	Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	
Lys	Ile													
				85					90				95	

Tyr	Ser	Ile	Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu	
Leu	Glu													
			100					105					110	

Asp	Trp	Lys	Asp	Asn	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr	
Leu	Gly													
		115					120					125		

Asn	His	Glu	Thr	Asn	Tyr	Thr	Leu	His	Leu	Val	Ala	Ile	Thr	
Gly	Asn													
	130					135					140			

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 145 150 155
 160

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 165 170
 175

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 180 185 190

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Lys Thr Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 195 200 205

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 210 215 220

Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 225 230 235

<210> 19
 <211> 235
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 226-460 K423Q

<400> 19

Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His
 Asp Gly
 1 5 10 15

Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His
 Thr Ser
 20 25 30

Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His
 Val Tyr
 35 40 45

Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His
 Arg Ile
 50 55 60

Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys
 Tyr Gly
 65 70 75
 80

Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys
 Ile Tyr
 85 90 95

Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu
 Glu Asp
 100 105 110

Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu
 Gly Asn
 115 120 125

His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly
 Asn Val
 130 135 140

Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr
 Trp Asp
 145 150 155
 160

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser
 Gly Gly

					165						170			
175														
Trp	Trp	Trp	His	Asp	Glu	Cys	Gly	Glu	Asn	Asn	Leu	Asn	Gly	
Lys	Tyr													
			180					185					190	
Asn	Lys	Pro	Arg	Ala	Gln	Ser	Lys	Pro	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	
Leu	Ser													
		195					200					205		
Trp	Lys	Ser	Gln	Asn	Gly	Arg	Leu	Tyr	Ser	Ile	Lys	Ser	Thr	
Lys	Met													
	210					215					220			
Leu	Ile	His	Pro	Thr	Asp	Ser	Glu	Ser	Phe	Glu				
225					230					235				
<210>	20													
<211>	235													
<212>	PRT													
<213>	Trình tự nhân tạo													
<220>														
<223>	226-460 K423S													
<400>	20													
Thr	Pro	Phe	Leu	Gln	Leu	Asn	Glu	Ile	Arg	Asn	Val	Lys	His	
Asp	Gly													
1			5						10				15	
Ile	Pro	Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu	His	
Thr	Ser													
			20					25					30	
Gly	Met	Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe	His	
Val	Tyr													
		35						40					45	

Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His
 Arg Ile
 50 55 60

Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys
 Tyr Gly
 65 70 75
 80

Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys
 Ile Tyr
 85 90 95

Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu
 Glu Asp
 100 105 110

Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu
 Gly Asn
 115 120 125

His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly
 Asn Val
 130 135 140

Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr
 Trp Asp
 145 150 155
 160

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser
 Gly Gly
 165 170
 175

Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
 Lys Tyr
 180 185 190

Asn Lys Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Ser
 195 200 205

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 210 215 220

Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 225 230 235

<210> 21
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 228-460 K423Q

<400> 21

Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly
 Ile Pro
 1 5 10 15

Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser
 Gly Met
 20 25 30

Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val Tyr
 Cys Asp
 35 40 45

Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile
 Asp Gly
 50 55 60

Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr Gly
 Phe Gly
 65 70 75
 80

Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr
Ser Ile

85 90 95

Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp
Trp Lys
100 105 110

Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn
His Glu
115 120 125

Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val
Pro Asn
130 135 140

Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp
His Lys
145 150 155
160

Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly
Trp Trp
165 170
175

Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr
Asn Lys
180 185 190

Pro Arg Ala Gln Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser
Trp Lys
195 200 205

Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met
Leu Ile
210 215 220

His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu

225

230

<210> 22

<211> 233

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 228-460 K423S

<400> 22

Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly
Ile Pro

1

5

10

15

Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser
Gly Met

20

25

30

Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val Tyr
Cys Asp

35

40

45

Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile
Asp Gly

50

55

60

Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr Gly
Phe Gly

65

70

75

80

Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr
Ser Ile

85

90

95

Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp
Trp Lys

100

105

110

26345

Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn
His Glu
115 120 125

Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val
Pro Asn
130 135 140

Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp
His Lys
145 150 155
160

Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly
Trp Trp
165 170
175

Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr
Asn Lys
180 185 190

Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser
Trp Lys
195 200 205

Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met
Leu Ile
210 215 220

His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
225 230

<210> 23
<211> 233
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 228-460 S424T

<400> 23

Phe	Leu	Gln	Leu	Asn	Glu	Ile	Arg	Asn	Val	Lys	His	Asp	Gly
Ile	Pro												
1				5					10				15

Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu	His	Thr	Ser
Gly	Met												
			20					25					30

Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe	His	Val	Tyr
Cys	Asp												
		35					40					45	

Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln	His	Arg	Ile
Asp	Gly												
	50					55					60		

Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr	Lys	Tyr	Gly
Phe	Gly												
65					70					75			
80													

Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	Lys	Ile	Tyr
Ser	Ile												
				85					90				95

Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu	Leu	Glu	Asp
Trp	Lys												
			100					105					110

Asp	Asn	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Leu	Gly	Asn
His	Glu												
		115					120					125	

Thr	Asn	Tyr	Thr	Leu	His	Leu	Val	Ala	Ile	Thr	Gly	Asn	Val
Pro	Asn												
	130					135					140		

Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp
 His Lys
 145 150 155
 160

Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly
 Trp Trp
 165 170
 175

Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr
 Asn Lys
 180 185 190

Pro Arg Ala Lys Thr Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser
 Trp Lys
 195 200 205

Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met
 Leu Ile
 210 215 220

His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 225 230

<210> 24
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 233-460 K423Q

<400> 24

Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly Ile Pro Ala Glu Cys
 Thr Thr
 1 5 10 15

Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser Gly Met Tyr Ala Ile
 Arg Pro
 20 25 30

Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val Tyr Cys Asp Val Ile Ser
Gly Ser

35

40

45

Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile Asp Gly Ser Gln Asn
Phe Asn

50

55

60

Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr Gly Phe Gly Arg Leu Asp
Gly Glu

65

70

75

80

Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln
Ser Asn

85

90

95

Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys
His Tyr

100

105

110

Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr
Thr Leu

115

120

125

His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro
Glu Asn

130

135

140

Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp His Lys Ala Lys Gly
His Phe

145

150

155

160

Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly Trp Trp Trp His Asp
Glu Cys

165

170

175

Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr Asn Lys Pro Arg Ala
 Gln Ser
 180 185 190

Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser Trp Lys Ser Gln Asn
 Gly Arg
 195 200 205

Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met Leu Ile His Pro Thr
 Asp Ser
 210 215 220

Glu Ser Phe Glu
 225

<210> 25
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 233-460 K423S

<400> 25

Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly Ile Pro Ala Glu Cys
 Thr Thr
 1 5 10 15

Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser Gly Met Tyr Ala Ile
 Arg Pro
 20 25 30

Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val Tyr Cys Asp Val Ile Ser
 Gly Ser
 35 40 45

Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile Asp Gly Ser Gln Asn
 Phe Asn
 50 55 60

Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr Gly Phe Gly Arg Leu Asp
 Gly Glu
 65 70 75
 80

Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln
 Ser Asn
 85 90 95

Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys
 His Tyr
 100 105 110

Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr
 Thr Leu
 115 120 125

His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro
 Glu Asn
 130 135 140

Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp His Lys Ala Lys Gly
 His Phe
 145 150 155
 160

Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly Trp Trp Trp His Asp
 Glu Cys
 165 170
 175

Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr Asn Lys Pro Arg Ala
 Ser Ser
 180 185 190

Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser Trp Lys Ser Gln Asn
 Gly Arg
 195 200 205

Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met Leu Ile His Pro Thr
 Asp Ser
 210 215 220

Glu Ser Phe Glu
 225

<210> 26
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 241-460 K423Q

<400> 26

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr
 1 5 10 15

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
 His Val
 20 25 30

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 35 40 45

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

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 65 70 75
 80

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
 Leu Glu
 85 90 95

Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr
 Leu Gly
 100 105 110

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
 Gly Asn
 115 120 125

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 130 135 140

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 145 150 155
 160

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 165 170
 175

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Gln Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 180 185 190

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 195 200 205

Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 210 215 220

<210> 27
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 241-460 K423S

<400> 27

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr
 1 5 10 15

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
 His Val
 20 25 30

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 35 40 45

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

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 65 70 75
 80

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
 Leu Glu
 85 90 95

Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr
 Leu Gly
 100 105 110

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
 Gly Asn
 115 120 125

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 130 135 140

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 145 150 155
 160

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 165 170
 175

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 180 185 190

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 195 200 205

Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 210 215 220

<210> 28
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 242-460 K423Q

<400> 28

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

Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His
 Val Tyr
 20 25 30

Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His
 Arg Ile
 35 40 45

Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys
 Tyr Gly
 50 55 60

Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys
 Ile Tyr
 65 70 75
 80

Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu
 Glu Asp
 85 90 95

Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu
 Gly Asn
 100 105 110

His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly
 Asn Val
 115 120 125

Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr
 Trp Asp
 130 135 140

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser
 Gly Gly
 145 150 155
 160

Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
 Lys Tyr
 165 170
 175

Asn Lys Pro Arg Ala Gln Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Ser
 180 185 190

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 195 200 205

Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 210 215

<210> 29
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 242-460 K423S

<400> 29

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

Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His
 Val Tyr
 20 25 30

Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His
 Arg Ile
 35 40 45

Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys
 Tyr Gly
 50 55 60

Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys
 Ile Tyr
 65 70 75
 80

Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu
 Glu Asp
 85 90 95

Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu
 Gly Asn
 100 105 110

His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly
 Asn Val
 115 120 125

Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr
 Trp Asp
 130 135 140

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser
 Gly Gly
 145 150 155
 160

Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
 Lys Tyr
 165 170
 175

Asn Lys Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Ser
 180 185 190

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 195 200 205

Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 210 215

<210> 30

<211> 231

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 225-455 K423Q

<400> 30

Thr	Thr	Pro	Phe	Leu	Gln	Leu	Asn	Glu	Ile	Arg	Asn	Val	Lys	
His	Asp													
1				5					10					15

Gly	Ile	Pro	Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu	
His	Thr													
			20					25					30	

Ser	Gly	Met	Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe	
His	Val													
		35					40					45		

Tyr	Cys	Asp	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln	
His	Arg													
	50					55					60			

Ile	Asp	Gly	Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr	
Lys	Tyr													
65					70					75				
80														

Gly	Phe	Gly	Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	
Lys	Ile													
				85					90					95

Tyr	Ser	Ile	Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu	
Leu	Glu													
			100					105					110	

Asp	Trp	Lys	Asp	Asn	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr	
Leu	Gly													
		115					120					125		

Asn	His	Glu	Thr	Asn	Tyr	Thr	Leu	His	Leu	Val	Ala	Ile	Thr	
Gly	Asn													
	130						135					140		

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 145 150 155
 160

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 165 170
 175

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 180 185 190

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Gln Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 195 200 205

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 210 215 220

Met Leu Ile His Pro Thr Asp
 225 230

<210> 31
 <211> 231
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 225-455 K423S

<400> 31

Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys
 His Asp
 1 5 10 15

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr

26345

			20					25				30	
Ser	Gly	Met	Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe
His	Val												
		35					40					45	
Tyr	Cys	Asp	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln
His	Arg												
	50					55					60		
Ile	Asp	Gly	Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr
Lys	Tyr												
65					70					75			
80													
Gly	Phe	Gly	Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu
Lys	Ile												
				85					90				95
Tyr	Ser	Ile	Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu
Leu	Glu												
			100					105					110
Asp	Trp	Lys	Asp	Asn	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr
Leu	Gly												
		115					120					125	
Asn	His	Glu	Thr	Asn	Tyr	Thr	Leu	His	Leu	Val	Ala	Ile	Thr
Gly	Asn												
	130						135				140		
Val	Pro	Asn	Ala	Ile	Pro	Glu	Asn	Lys	Asp	Leu	Val	Phe	Ser
Thr	Trp												
145					150					155			
160													
Asp	His	Lys	Ala	Lys	Gly	His	Phe	Asn	Cys	Pro	Glu	Gly	Tyr
Ser	Gly												
				165					170				
175													

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 180 185 190

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 195 200 205

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 210 215 220

Met Leu Ile His Pro Thr Asp
 225 230

<210> 32
 <211> 230
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 226-455 K423Q

<400> 32

Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His
 Asp Gly
 1 5 10 15

Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His
 Thr Ser
 20 25 30

Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His
 Val Tyr
 35 40 45

Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His
 Arg Ile
 50 55 60

Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys
 Tyr Gly
 65 70 75
 80

Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys
 Ile Tyr
 85 90 95

Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu
 Glu Asp
 100 105 110

Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu
 Gly Asn
 115 120 125

His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly
 Asn Val
 130 135 140

Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr
 Trp Asp
 145 150 155
 160

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser
 Gly Gly
 165 170
 175

Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
 Lys Tyr
 180 185 190

Asn Lys Pro Arg Ala Gln Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Ser
 195 200 205

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 210 215 220

Leu Ile His Pro Thr Asp
 225 230

<210> 33
 <211> 230
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 226-455 K423S

<400> 33

Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His
 Asp Gly
 1 5 10 15

Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His
 Thr Ser
 20 25 30

Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His
 Val Tyr
 35 40 45

Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His
 Arg Ile
 50 55 60

Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys
 Tyr Gly
 65 70 75
 80

Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys
 Ile Tyr
 85 90 95

Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu
 Glu Asp
 100 105 110

Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu
 Gly Asn
 115 120 125

His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly
 Asn Val
 130 135 140

Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr
 Trp Asp
 145 150 155
 160

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser
 Gly Gly
 165 170
 175

Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
 Lys Tyr
 180 185 190

Asn Lys Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Ser
 195 200 205

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 210 215 220

Leu Ile His Pro Thr Asp
 225 230

<210> 34

<211> 228
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 228-455 K423Q

<400> 34

Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly
 Ile Pro
 1 5 10 15

Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser
 Gly Met
 20 25 30

Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val Tyr
 Cys Asp
 35 40 45

Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile
 Asp Gly
 50 55 60

Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr Gly
 Phe Gly
 65 70 75
 80

Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr
 Ser Ile
 85 90 95

Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp
 Trp Lys
 100 105 110

Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn
 His Glu
 115 120 125

Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val
 Pro Asn
 130 135 140

Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp
 His Lys
 145 150 155
 160

Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly
 Trp Trp
 165 170
 175

Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr
 Asn Lys
 180 185 190

Pro Arg Ala Gln Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser
 Trp Lys
 195 200 205

Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met
 Leu Ile
 210 215 220

His Pro Thr Asp
 225

<210> 35
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 228-455 K423S

<400> 35

Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly
 Ile Pro

1		5				10				15			
Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu	His	Thr	Ser
Gly	Met												
			20					25				30	
Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe	His	Val	Tyr
Cys	Asp												
		35					40					45	
Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln	His	Arg	Ile
Asp	Gly												
		50				55					60		
Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr	Lys	Tyr	Gly
Phe	Gly												
65					70					75			
80													
Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	Lys	Ile	Tyr
Ser	Ile												
			85						90				95
Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu	Leu	Glu	Asp
Trp	Lys												
			100					105					110
Asp	Asn	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Leu	Gly	Asn
His	Glu												
		115					120					125	
Thr	Asn	Tyr	Thr	Leu	His	Leu	Val	Ala	Ile	Thr	Gly	Asn	Val
Pro	Asn												
		130				135					140		
Ala	Ile	Pro	Glu	Asn	Lys	Asp	Leu	Val	Phe	Ser	Thr	Trp	Asp
His	Lys												
145					150					155			
160													

Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly
Trp Trp

165

170

175

Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr
Asn Lys

180

185

190

Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser
Trp Lys

195

200

205

Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met
Leu Ile

210

215

220

His Pro Thr Asp

225

<210> 36

<211> 223

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 233-455 K423Q

<400> 36

Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly Ile Pro Ala Glu Cys
Thr Thr

1

5

10

15

Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser Gly Met Tyr Ala Ile
Arg Pro

20

25

30

Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val Tyr Cys Asp Val Ile Ser
Gly Ser

35

40

45

Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile Asp Gly Ser Gln Asn
 Phe Asn
 50 55 60

Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr Gly Phe Gly Arg Leu Asp
 Gly Glu
 65 70 75
 80

Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln
 Ser Asn
 85 90 95

Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys
 His Tyr
 100 105 110

Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr
 Thr Leu
 115 120 125

His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro
 Glu Asn
 130 135 140

Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp His Lys Ala Lys Gly
 His Phe
 145 150 155
 160

Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly Trp Trp Trp His Asp
 Glu Cys
 165 170
 175

Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr Asn Lys Pro Arg Ala
 Gln Ser
 180 185 190

Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser Trp Lys Ser Gln Asn
 Gly Arg
 195 200 205

Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met Leu Ile His Pro Thr
 Asp
 210 215 220

<210> 37
 <211> 223
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 233-455 K423S

<400> 37

Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly Ile Pro Ala Glu Cys
 Thr Thr
 1 5 10 15

Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser Gly Met Tyr Ala Ile
 Arg Pro
 20 25 30

Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val Tyr Cys Asp Val Ile Ser
 Gly Ser
 35 40 45

Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile Asp Gly Ser Gln Asn
 Phe Asn
 50 55 60

Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr Gly Phe Gly Arg Leu Asp
 Gly Glu
 65 70 75
 80

Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln
 Ser Asn

85

90

95

Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys
His Tyr

100

105

110

Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr
Thr Leu

115

120

125

His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro
Glu Asn

130

135

140

Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp His Lys Ala Lys Gly
His Phe

145

150

155

160

Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly Trp Trp Trp His Asp
Glu Cys

165

170

175

Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr Asn Lys Pro Arg Ala
Ser Ser

180

185

190

Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser Trp Lys Ser Gln Asn
Gly Arg

195

200

205

Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met Leu Ile His Pro Thr
Asp

210

215

220

<210> 38

<211> 215

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 241-455 K423Q

<400> 38

Gly	Ile	Pro	Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu
His	Thr												
1				5					10				15

Ser	Gly	Met	Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe
His	Val												
			20					25				30	

Tyr	Cys	Asp	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln
His	Arg												
		35					40					45	

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

Gly	Phe	Gly	Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu
Lys	Ile												
65					70					75			
80													

Tyr	Ser	Ile	Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu
Leu	Glu												
				85					90				95

Asp	Trp	Lys	Asp	Asn	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr
Leu	Gly												
			100					105				110	

Asn	His	Glu	Thr	Asn	Tyr	Thr	Leu	His	Leu	Val	Ala	Ile	Thr
Gly	Asn												
		115					120				125		

Val	Pro	Asn	Ala	Ile	Pro	Glu	Asn	Lys	Asp	Leu	Val	Phe	Ser
Thr	Trp												

130

135

140

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
Ser Gly

145

150

155

160

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
Gly Lys

165

170

175

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Gln Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
Gly Leu

180

185

190

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
Thr Lys

195

200

205

Met Leu Ile His Pro Thr Asp
210 215

<210> 39

<211> 215

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 241-455 K423S

<400> 39

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
His Thr

1

5

10

15

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
His Val

20

25

30

26345

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 35 40 45

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

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 65 70 75
 80

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
 Leu Glu
 85 90 95

Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr
 Leu Gly
 100 105 110

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
 Gly Asn
 115 120 125

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 130 135 140

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 145 150 155
 160

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 165 170
 175

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 180 185 190

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 195 200 205

Met Leu Ile His Pro Thr Asp
 210 215

<210> 40
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 242-455 K423Q

<400> 40

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

Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His
 Val Tyr
 20 25 30

Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His
 Arg Ile
 35 40 45

Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys
 Tyr Gly
 50 55 60

Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys
 Ile Tyr
 65 70 75
 80

Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu
 Glu Asp
 85 90 95

Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu
 Gly Asn
 100 105 110

His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly
 Asn Val
 115 120 125

Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr
 Trp Asp
 130 135 140

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser
 Gly Gly
 145 150 155
 160

Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
 Lys Tyr
 165 170
 175

Asn Lys Pro Arg Ala Gln Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Ser
 180 185 190

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 195 200 205

Leu Ile His Pro Thr Asp
 210

<210> 41
 <211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 242-455 K423S

<400> 41

Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His
Thr Ser

1 5 10 15

Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His
Val Tyr

20 25 30

Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His
Arg Ile

35 40 45

Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys
Tyr Gly

50 55 60

Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys
Ile Tyr

65 70 75
80

Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu
Glu Asp

85 90 95

Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu
Gly Asn

100 105 110

His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly
Asn Val

115 120 125

Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr
 Trp Asp
 130 135 140

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser
 Gly Gly
 145 150 155
 160

Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
 Lys Tyr
 165 170
 175

Asn Lys Pro Arg Ala Ser Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Ser
 180 185 190

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 195 200 205

Leu Ile His Pro Thr Asp
 210

<210> 42
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> K423Q số 227 của chó

<400> 42

Phe Leu His Leu Asn Glu Thr Lys Asn Val Glu His Asn Asp
 Ile Pro
 1 5 10 15

Ala Asn Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser
 Gly Ile
 20 25 30

Tyr Ser Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe Asn Val Tyr
Cys Asp

35

40

45

Val Lys Ser Gly Ser Ser Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile
Asp Gly

50

55

60

Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Arg Tyr Gly
Phe Gly

65

70

75

80

Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr
Ser Ile

85

90

95

Val Lys Gln Ser Asn Tyr Ile Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp
Trp Asn

100

105

110

Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Phe Phe His Leu Gly Asn
His Glu

115

120

125

Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Glu Ile Thr Gly Asn Ile
Leu Asn

130

135

140

Ala Leu Pro Glu His Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp
His Lys

145

150

155

160

Ala Lys Gly His Val Asn Cys Pro Glu Ser Tyr Ser Gly Gly
Trp Trp

165

170

175

Trp His Asn Val Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr
 Asn Lys
 180 185 190

Gln Arg Ala Gln Thr Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Tyr
 Trp Lys
 195 200 205

Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met
 Leu Ile
 210 215 220

His Pro Ile Asp Ser Glu Ser Ser Glu
 225 230

<210> 43
 <211> 233
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> K423S số 227 của chó

<400> 43

Phe Leu His Leu Asn Glu Thr Lys Asn Val Glu His Asn Asp
 Ile Pro
 1 5 10 15

Ala Asn Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser
 Gly Ile
 20 25 30

Tyr Ser Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe Asn Val Tyr
 Cys Asp
 35 40 45

Val Lys Ser Gly Ser Ser Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile
 Asp Gly
 50 55 60

Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Arg Tyr Gly
 Phe Gly
 65 70 75
 80

Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr
 Ser Ile
 85 90 95

Val Lys Gln Ser Asn Tyr Ile Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp
 Trp Asn
 100 105 110

Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Phe Phe His Leu Gly Asn
 His Glu
 115 120 125

Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Glu Ile Thr Gly Asn Ile
 Leu Asn
 130 135 140

Ala Leu Pro Glu His Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp
 His Lys
 145 150 155
 160

Ala Lys Gly His Val Asn Cys Pro Glu Ser Tyr Ser Gly Gly
 Trp Trp
 165 170
 175

Trp His Asn Val Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr
 Asn Lys
 180 185 190

Gln Arg Ala Ser Thr Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Tyr
 Trp Lys
 195 200 205

Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met
 Leu Ile
 210 215 220

His Pro Ile Asp Ser Glu Ser Ser Glu
 225 230

<210> 44
 <211> 708
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> axit nucleic mã hóa 225WT

<400> 44
 actactccct ttcttcagtt gaatgaaata agaaatgtaa aacatgatgg
 cattcctgct 60

gaatgtacca ccatttataa cagaggtgaa catacaagtg gcatgtatgc
 catcagaccc 120

agcaactctc aagtttttca tgtctactgt gatgttatat caggtagtcc
 atggacatta 180

attcaacatc gaatagatgg atcacaaaac ttcaatgaaa cgtgggagaa
 ctacaaatat 240

ggttttggga ggcttgatgg agaatttttg ttgggcctag agaagatata
 ctccatagtg 300

aagcaatcta attatgtttt acgaattgag ttggaagact ggaaagacaa
 caaacattat 360

attgaatatt ctttttactt gggaaatcac gaaaccaact atacgctaca
 tctagttgcg 420

attactggca atgtccccaa tgcaatcccg gaaaacaaag atttggtggt
 ttctacttgg 480

gatcaciaaag caaaaggaca cttcaactgt ccagaggggtt attcaggagg
 ctggtggtgg 540

catgatgagt gtggagaaaa caacctaaat ggtaaataata acaaaccaag
 agcaaaatct 600

aagccagaga ggagaagagg attatcttgg aagtctcaaa atggaaggtt
atactctata 660

aatcaacca aaatgttgat ccatccaaca gattcagaaa gctttgaa
708

<210> 45

<211> 708

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit nucleic mã hóa K423Q số 225

<400> 45

actactccct ttcttcagtt gaatgaaata agaaatgtaa aacatgatgg
cattcctgct 60

gaatgtacca ccatttataa cagagggtgaa catacaagtg gcatgtatgc
catcagaccc 120

agcaactctc aagtttttca tgtctactgt gatgttatat caggtagtcc
atggacatta 180

attcaacatc gaatagatgg atcacaaaac ttcaatgaaa cgtggggagaa
ctacaaatat 240

ggttttggga ggcttgatgg agaattttgg ttgggcctag agaagatata
ctccatagtg 300

aagcaatcta attatgtttt acgaattgag ttggaagact ggaaagacaa
caaacattat 360

attgaatatt ctttttactt gggaaatcac gaaaccaact atacgctaca
tctagttgcg 420

attactggca atgtccccaa tgcaatcccg gaaaacaaag atttggtggt
ttctacttgg 480

gatcaciaag caaaaggaca cttcaactgt ccagagggtt attcaggagg
ctgggtggtgg 540

catgatgagt gtggagaaaa caacctaaat ggtaaataata acaaaccaag
agcacaatct 600

aagccagaga ggagaagagg attatcttgg aagtctcaaa atggaaggtt
atactctata 660

aaatcaacca aaatggtgat ccatccaaca gattcagaaa gctttgaa
708

<210> 46

<211> 708

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit nucleic mã hóa K423S số 225

<400> 46

actactccct ttcttcagtt gaatgaaata agaaatgtaa aacatgatgg
cattcctgct 60

gaatgtacca ccatttataa cagaggtgaa catacaagtg gcatgtatgc
catcagaccc 120

agcaactctc aagtttttca tgtctactgt gatgttatat caggtagtcc
atggacatta 180

attcaacatc gaatagatgg atcacaaaac ttcaatgaaa cgtgggagaa
ctacaaatat 240

ggttttggga ggcttgatgg agaatttttg ttgggcctag agaagatata
ctccatagtg 300

aagcaatcta attatgtttt acgaattgag ttggaagact ggaaagacaa
caaacattat 360

attgaatatt ctttttactt gggaaatcac gaaaccaact atacgctaca
tctagttgcg 420

attactggca atgtcccca tgcaatcccg gaaaacaaag atttggtggt
ttctacttgg 480

gatcaciaag caaaaggaca cttcaactgt ccagaggggtt attcaggagg
ctggtggtgg 540

catgatgagt gtggagaaaa caacctaaat ggtaaataata acaaaccaag
agcaagctct 600

aagccagaga ggagaagagg attatcttgg aagtctcaaa atggaagggt
atactctata 660

aaatcaacca aaatggtgat ccatccaaca gattcagaaa gctttgaa
708

<210> 47
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> axit nucleic mã hóa K423Q số 226

<400> 47
 actccctttc ttcagttgaa tgaaataaga aatgtaaaac atgatggcat
 tcctgctgaa 60

tgtaccacca tttataacag aggtgaacat acaagtggca tgtatgccat
 cagacccagc 120

aactctcaag tttttcatgt ctactgtgat gttatatcag gtagtccatg
 gacattaatt 180

caacatcgaa tagatggatc acaaaacttc aatgaaacgt gggagaacta
 caaatatggt 240

tttgggaggc ttgatggaga attttggttg ggcctagaga agatatactc
 catagtgaag 300

caatctaatt atgttttacg aattgagttg gaagactgga aagacaacaa
 acattatatt 360

gaatatttctt tttacttggg aaatcacgaa accaactata cgctacatct
 agttgcgatt 420

actggcaatg tccccaatgc aatcccggaa aacaagatt tgggtgttttc
 tacttgggat 480

cacaaagcaa aaggacactt caactgtcca gagggttatt caggaggctg
 gtggtggcat 540

gatgagtgtg gagaaaacaa cctaaatggt aaatataaca aaccaagagc
 acaatctaag 600

ccagagagga gaagaggatt atcttggaag tctcaaaatg gaaggttata
 ctctataaaa 660

tcaaccaaaa tgttgatcca tccaacagat tcagaaagct ttgaa
 705

<210> 48
 <211> 705

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit nucleic mã hóa K423S số 226

<400> 48

actccctttc ttcagttgaa tgaaataaga aatgtaaaac atgatggcat
tcctgctgaa 60

tgtaccacca tttataacag aggtgaacat acaagtggca tgtatgccat
cagacccagc 120

aactctcaag tttttcatgt ctactgtgat gttatatcag gtagtccatg
gacattaatt 180

caacatcgaa tagatggatc acaaaacttc aatgaaacgt gggagaacta
caaatatggg 240

tttgggaggg ttgatggaga attttggttg ggcctagaga agatatactc
catagtgaag 300

caatctaatt atgtttttacg aattgagttg gaagactgga aagacaacaa
acattatat 360

gaatattctt tttacttggg aaatcacgaa accaactata cgctacatct
agttgcgatt 420

actggcaatg tccccaatgc aatcccggaa aacaaagatt tggtgttttc
tacttgggat 480

cacaaagcaa aaggacactt caactgtcca gagggttatt caggaggctg
gtggtggcat 540

gatgagtgtg gagaaaacaa cctaaatggg aaatataaca aaccaagagc
aagctctaag 600

ccagagagga gaagaggatt atcttgggaag tctcaaaatg gaaggttata
ctctataaaa 660

tcaaccaaaa tgttgatcca tccaacagat tcagaaagct ttgaa
705

<210> 49

<211> 699

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit nucleic mã hóa K423Q số 228

<400> 49

tttcttcagt tgaatgaaat aagaaatgta aaacatgatg gcattcctgc
tgaatgtacc 60

accatttata acagaggtga acatacaagt ggcatgtatg ccatcagacc
cagcaactct 120

caagtttttc atgtctactg tgatggtata tcaggtagtc catggacatt
aattcaacat 180

cgaatagatg gatcacaaaa cttcaatgaa acgtgggaga actacaaata
tggttttggg 240

aggcttgatg gagaattttg gttgggccta gagaagatat actccatagt
gaagcaatct 300

aattatgttt tacgaattga gttggaagac tggaaagaca acaaacatta
tattgaatat 360

tcttttttact tgggaaatca cgaaaccaac tatacgctac atctagttgc
gattactggc 420

aatgtcccca atgcaatccc ggaaaacaaa gatttggtgt tttctacttg
ggatcacaaa 480

gcaaaaggac acttcaactg tccagagggg tattcaggag gctggtggtg
gcatgatgag 540

tgtggagaaa acaacctaaa tggtaaatat acaaaccac gagcacaatc
taagccagag 600

aggagaagag gattatcttg gaagtctcaa aatggaaggt tataactctat
aaaatcaacc 660

aaaatggtga tccatccaac agattcagaa agctttgaa
699

<210> 50

<211> 699

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit nucleic mã hóa K423S số 228

<400> 50
 tttcttcagt tgaatgaaat aagaaatgta aaacatgatg gcattcctgc
 tgaatgtacc 60

 accatttata acagaggtga acatacaagt ggcatgtatg ccatcagacc
 cagcaactct 120

 caagtttttc atgtctactg tgatgttata tcaggtagtc catggacatt
 aattcaacat 180

 cgaatagatg gatcacaaaa cttcaatgaa acgtgggaga actacaaata
 tggtttttggg 240

 aggcttgatg gagaattttg gttgggccta gagaagatat actccatagt
 gaagcaatct 300

 aattatgttt tacgaattga gttggaagac tggaaagaca acaaacatta
 tattgaatat 360

 tctttttact tgggaaatca cgaaaccaac tatacgctac atctagttgc
 gattactggc 420

 aatgtcccca atgcaatccc ggaaaacaaa gatttggtgt tttctacttg
 ggatcacaaa 480

 gcaaaaggac acttcaactg tccagagggg tattcaggag gctggtggtg
 gcatgatgag 540

 tgtggagaaa acaacctaaa tggtaaatat acaaaccac gagcaagctc
 taagccagag 600

 aggagaagag gattatcttg gaagtctcaa aatggaagggt tatactctat
 aaaatcaacc 660

 aaaatggtga tccatccaac agattcagaa agctttgaa
 699

<210> 51
 <211> 684
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> axit nucleic mã hóa K423Q số 233

<400> 51
 gaaataagaa atgtaaaaca tgatggcatt cctgctgaat gtaccaccat
 ttataacaga 60

ggtgaacata caagtggcat gtatgccatc agaccagca actctcaagt
 ttttcatgtc 120

tactgtgatg ttatatcagg tagtccatgg acattaattc aacatcgaat
 agatggatca 180

caaaacttca atgaaacgtg ggagaactac aaatatgggtt ttgggagggt
 tgatggagaa 240

ttttgggttg gcctagagaa gatatactcc atagtgaagc aatctaatta
 tgttttacga 300

attgagttgg aagactggaa agacaacaaa cattatatattg aatattcttt
 ttacttggga 360

aatcacgaaa ccaactatac gctacatcta gttgcgatta ctggcaatgt
 cccaatgca 420

atcccggaaa acaaagattt ggtgttttct acttgggatc acaaagcaaa
 aggacacttc 480

aactgtccag agggttattc aggaggctgg tgggtggcatg atgagtgtgg
 agaaaacaac 540

ctaaatggta aatataacaa accaagagca caatctaagc cagagaggag
 aagaggatta 600

tcttgggaagt ctcaaaatgg aaggttatac tctataaaat caacccaaat
 gttgatccat 660

ccaacagatt cagaaagctt tgaa
 684

<210> 52

<211> 684

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit nucleic mã hóa K423S số 233

<400> 52

gaaataagaa atgtaaaaca tgatggcatt cctgctgaat gtaccacat
 ttataacaga 60

ggtgaacata caagtggcat gtatgccatc agaccagca actctcaagt
 ttttcatgtc 120

tactgtgatg ttatatcagg tagtccatgg acattaattc aacatcgaat
agatggatca 180

caaaacttca atgaaacgtg ggagaactac aaatatgggtt ttgggagggt
tgatggagaa 240

ttttgggttg gcctagagaa gatatactcc atagtgaagc aatctaatta
tgttttacga 300

attgagttgg aagactggaa agacaacaaa cattatatgtg aatattcttt
ttacttggga 360

aatcacgaaa ccaactatac gctacatcta gttgcgatta ctggcaatgt
ccccaatgca 420

atcccggaaa acaaagatgtt ggtgttttct acttgggatc acaaagcaaa
aggacacttc 480

aactgtccag agggttattc aggaggctgg tgggtggcatg atgagtggtg
agaaaacaac 540

ctaaatggta aatataacaa accaagagca agctctaagc cagagaggag
aagaggatta 600

tcttggaagt ctcaaaatgg aagggttatac tctataaaat caacccaaat
gttgatccat 660

ccaacagatt cagaaagctt tgaa
684

<210> 53

<211> 660

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit nucleic mã hóa K423Q số 241

<400> 53

ggcattcctg ctgaatgtac caccatztat aacagagggtg aacatacaag
tggcatgtat 60

gccatcagac ccagcaactc tcaagttttt catgtctact gtgatgttat
atcaggtagt 120

ccatggacat taattcaaca tcgaatagat ggatcacaaa acttcaatga
aacgtgggag 180

aactacaaat atggttttgg gaggcttgat ggagaatttt ggttgggcct
agagaagata 240

tactccatag tgaagcaatc taattatggt ttacgaattg agttggaaga
ctggaaagac 300

aacaaacatt atattgaata ttcttttttac ttgggaaatc acgaaaccaa
ctatacgcta 360

catctagttg cgattactgg caatgtcccc aatgcaatcc cgaaaaacaa
agatttggtg 420

ttttctactt gggatcacaa agcaaaagga cacttcaact gtccagaggg
ttattcagga 480

ggctgggtggg ggcattgatga gtgtggagaa aacaacctaa atggtaaata
taacaaacca 540

agagcacaaat ctaagccaga gaggagaaga ggattatctt ggaagtctca
aaatggaagg 600

ttataactcta taaaatcaac caaaatggtg atccatccaa cagattcaga
aagctttgaa 660

<210> 54

<211> 660

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit nucleic mã hóa K423S số 241

<400> 54

ggcattcctg ctgaatgtac caccatttat aacagaggtg aacatacaag
tggcatgtat 60

gccatcagac ccagcaactc tcaagttttt catgtctact gtgatgttat
atcaggtagt 120

ccatggacat taattcaaca tcgaatagat ggatcacaaa acttcaatga
aacgtgggag 180

aactacaaat atggttttgg gaggcttgat ggagaatttt ggttgggcct
agagaagata 240

tactccatag tgaagcaatc taattatggt ttacgaattg agttggaaga
ctggaaagac 300

aacaaacatt atattgaata ttcttttttac ttgggaaatc acgaaaccaa
ctatacgcta 360

catctagttg cgattactgg caatgtcccc aatgcaatcc cggaaaacaa
agatttggtg 420

ttttctactt gggatcacaa agcaaaagga cacttcaact gtccagaggg
ttattcagga 480

ggctgggtggg ggcatgatga gtgtggagaa aacaacctaa atggtaaata
taacaaacca 540

agagcaagct ctaagccaga gaggagaaga ggattatctt ggaagtctca
aaatggaagg 600

ttatactcta taaaatcaac caaaatgttg atccatccaa cagattcaga
aagctttgaa 660

<210> 55

<211> 657

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit nucleic mã hóa K423Q số 242

<400> 55

attcctgctg aatgtaccac catttataac agaggtgaac atacaagtgg
catgtatgcc 60

atcagaccca gcaactctca agtttttcat gtctactgtg atgttatatc
aggtagtcca 120

tggacattaa ttcaacatcg aatagatgga tcacaaaact tcaatgaaac
gtgggagaac 180

tacaaatatg gttttgggag gcttgatgga gaattttggt tgggcctaga
gaagatatac 240

tccatagtga agcaatctaa ttatgtttta cgaattgagt tggaagactg
gaaagacaac 300

aaacattata ttgaatattc tttttacttg ggaaatcacg aaaccaacta
tacgctacat 360

ctagttgcga ttactggcaa tgtccccaat gcaatcccgg aaaacaaaga
tttgggtgtt 420

tctacttggg atcacaaagc aaaaggacac ttcaactgtc cagagggtta
ttcaggaggc 480

tgggtggtggc atgatgagtg tggagaaaac aacctaaatg gtaaataataa
caaaccaaga 540

gcacaatcta agccagagag gagaagagga ttatcttgga agtctcaaaa
tggaagggtta 600

tactctataa aatcaaccaa aatgttgatc catccaacag attcagaaag
ctttgaa 657

<210> 56

<211> 657

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit nucleic mã hóa K423S số 242

<400> 56

attcctgctg aatgtaccac catttataac agaggtgaac atacaagtgg
catgtatgcc 60

atcagaccca gcaactctca agtttttcat gtctactgtg atgttatatc
aggtagtcca 120

tggacattaa ttcaacatcg aatagatgga tcacaaaact tcaatgaaac
gtgggagaaac 180

tacaaatatg gttttgggag gcttgatgga gaattttggt tgggcctaga
gaagatatac 240

tccatagtga agcaatctaa ttatgtttta cgaattgagt tggaagactg
gaaagacaac 300

aaacattata ttgaatatc tttttacttg ggaaatcacg aaaccaacta
tacgctacat 360

ctagttgcga ttactggcaa tgtccccaat gcaatcccg aaacaaaga
tttggtgttt 420

tctacttggg atcacaaagc aaaaggacac ttcaactgtc cagagggtta
ttcaggaggc 480

tgggtggtggc atgatgagtg tggagaaaac aacctaaatg gtaaataataa
caaaccaaga 540

gcaagctcta agccagagag gagaagagga ttatcttgga agtctcaaaa
tggaaggtta 600

tactctataa aatcaaccaa aatgttgatc catccaacag attcagaaag
ctttgaa 657

<210> 57

<211> 699

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> axit nucleic sequence mã hóa 227KQ của chó

<400> 57

tttttgcattc tcaacgaaac gaagaatgtc gaacacaacg acattccggc
aaattgcaca 60

actatctaca atagaggcga acatacgtcc ggtatctact ccattagacc
ttcaaacagc 120

caggtattca atgtgtactg cgatgtaaag tcaggatcgt catggacact
gatccagcat 180

aggatcgacg ggtcccagaa cttcaacgag acatggggaga actaccgcta
tggaatttggga 240

aggctggatg gggagttctg gttgggactt gagaaaatct acagcattgt
gaagcagtcg 300

aactacattc tccggattga actggaggac tggaatgaca acaaacacta
catcgagtat 360

ttcttttcattc tcggcaacca tgaaacgaat tacaccttgc accttgttggga
aatcacgggc 420

aacatttttga acgcgctgcc agaacacaaa gacctggtgt ttctgacatg
ggatcacaaa 480

gcaaaggggc acgtgaactg tcccgaatca tatagcgggg gatggtggtg
gcacaatgtc 540

tgtggtgaga acaatctcaa cgggaaatac aataagcagc gagctcagac
gaaacccgag 600

cggcggagag gtctgtattg gaagtcgcag aatggacgcc tgtattcgat
caaatcgacg 660

aaaatgctca tccaccccat cgactccgaa tcgtcggag
699

<210> 58
<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 201-460 K423del

<400> 58

Ile	Gln	Glu	Pro	Thr	Glu	Ile	Ser	Leu	Ser	Ser	Lys	Pro	Arg
Ala	Pro												
1				5					10				15

Arg	Thr	Thr	Pro	Phe	Leu	Gln	Leu	Asn	Glu	Ile	Arg	Asn	Val
Lys	His												
			20					25					30

Asp	Gly	Ile	Pro	Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly
Glu	His												
		35					40					45	

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

Val	Tyr	Cys	Asp	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile
Gln	His												
65					70					75			
80													

Arg	Ile	Asp	Gly	Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn
Tyr	Lys												
				85					90				95

Tyr	Gly	Phe	Gly	Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu
Glu	Lys												
			100					105					110

Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile
 Glu Leu
 115 120 125

Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe
 Tyr Leu
 130 135 140

Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile
 Thr Gly
 145 150 155
 160

Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe
 Ser Thr
 165 170
 175

Trp Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly
 Tyr Ser
 180 185 190

Gly Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu
 Asn Gly
 195 200 205

Lys Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg
 Gly Leu
 210 215 220

Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser
 Thr Lys
 225 230 235
 240

Met Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 245 250

<210> 59
 <211> 235
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 225-460 K423del

<400> 59

Thr	Thr	Pro	Phe	Leu	Gln	Leu	Asn	Glu	Ile	Arg	Asn	Val	Lys
His	Asp												
1				5					10				15

Gly	Ile	Pro	Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu
His	Thr												
				20				25					30

Ser	Gly	Met	Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe
His	Val												
		35					40					45	

Tyr	Cys	Asp	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln
His	Arg												
	50					55					60		

Ile	Asp	Gly	Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr
Lys	Tyr												
65					70					75			
80													

Gly	Phe	Gly	Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu
Lys	Ile												
				85					90				95

Tyr	Ser	Ile	Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu
Leu	Glu												
				100				105					110

Asp	Trp	Lys	Asp	Asn	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr
Leu	Gly												
				115			120					125	

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
 Gly Asn
 130 135 140

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 145 150 155
 160

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 165 170
 175

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 180 185 190

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Ser
 195 200 205

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 210 215 220

Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 225 230 235

<210> 60
 <211> 234
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 226-460 K423del

<400> 60

Thr	Pro	Phe	Leu	Gln	Leu	Asn	Glu	Ile	Arg	Asn	Val	Lys	His	
Asp	Gly													
1				5					10					15
Ile	Pro	Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu	His	
Thr	Ser													
			20					25					30	
Gly	Met	Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe	His	
Val	Tyr													
		35					40					45		
Cys	Asp	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln	His	
Arg	Ile													
	50					55					60			
Asp	Gly	Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr	Lys	
Tyr	Gly													
65					70					75				
80														
Phe	Gly	Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	Lys	
Ile	Tyr													
				85					90					95
Ser	Ile	Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu	Leu	
Glu	Asp													
			100					105					110	
Trp	Lys	Asp	Asn	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Leu	
Gly	Asn													
			115				120					125		
His	Glu	Thr	Asn	Tyr	Thr	Leu	His	Leu	Val	Ala	Ile	Thr	Gly	
Asn	Val													
	130					135					140			
Pro	Asn	Ala	Ile	Pro	Glu	Asn	Lys	Asp	Leu	Val	Phe	Ser	Thr	
Trp	Asp													

145
160

150

155

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser
Gly Gly

165

170

175

Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
Lys Tyr

180

185

190

Asn Lys Pro Arg Ala Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu
Ser Trp

195

200

205

Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys
Met Leu

210

215

220

Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
225 230

<210> 61

<211> 232

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 228-460 K423del

<400> 61

Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly
Ile Pro

1

5

10

15

Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser
Gly Met

20

25

30

Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val Tyr
 Cys Asp
 35 40 45

Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile
 Asp Gly
 50 55 60

Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr Gly
 Phe Gly
 65 70 75
 80

Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr
 Ser Ile
 85 90 95

Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp
 Trp Lys
 100 105 110

Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn
 His Glu
 115 120 125

Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val
 Pro Asn
 130 135 140

Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp
 His Lys
 145 150 155
 160

Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly
 Trp Trp
 165 170
 175

Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr
 Asn Lys
 180 185 190

Pro Arg Ala Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser Trp
 Lys Ser
 195 200 205

Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met Leu
 Ile His
 210 215 220

Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 225 230

<210> 62
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 233-460 K423del

<400> 62

Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly Ile Pro Ala Glu Cys
 Thr Thr
 1 5 10 15

Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser Gly Met Tyr Ala Ile
 Arg Pro
 20 25 30

Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val Tyr Cys Asp Val Ile Ser
 Gly Ser
 35 40 45

Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile Asp Gly Ser Gln Asn
 Phe Asn
 50 55 60

Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr Gly Phe Gly Arg Leu Asp
 Gly Glu
 65 70 75
 80

Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln
 Ser Asn
 85 90 95

Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys
 His Tyr
 100 105 110

Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr
 Thr Leu
 115 120 125

His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro
 Glu Asn
 130 135 140

Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp His Lys Ala Lys Gly
 His Phe
 145 150 155
 160

Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly Trp Trp Trp His Asp
 Glu Cys
 165 170
 175

Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr Asn Lys Pro Arg Ala
 Ser Lys
 180 185 190

Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly
 Arg Leu
 195 200 205

Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met Leu Ile His Pro Thr Asp
 Ser Glu
 210 215 220

Ser Phe Glu
 225

<210> 63
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 241-460 K423del

<400> 63

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr
 1 5 10 15

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
 His Val
 20 25 30

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 35 40 45

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

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 65 70 75
 80

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
 Leu Glu
 85 90 95

Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr
 Leu Gly
 100 105 110

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
 Gly Asn
 115 120 125

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 130 135 140

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 145 150 155
 160

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 165 170
 175

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Ser
 180 185 190

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 195 200 205

Leu Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 210 215

<210> 64
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 242-460 K423del

<400> 64

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

Gly	Met	Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe	His	
Val	Tyr													
			20					25					30	

Cys	Asp	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln	His	
Arg	Ile													
		35					40					45		

Asp	Gly	Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr	Lys	
Tyr	Gly													
	50					55					60			

Phe	Gly	Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	Lys	
Ile	Tyr													
65					70					75				
80														

Ser	Ile	Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu	Leu	
Glu	Asp													
				85					90				95	

Trp	Lys	Asp	Asn	Lys	His	Tyr	Ile	Glu	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Leu	
Gly	Asn													
				100					105				110	

His	Glu	Thr	Asn	Tyr	Thr	Leu	His	Leu	Val	Ala	Ile	Thr	Gly	
Asn	Val													
				115				120				125		

Pro	Asn	Ala	Ile	Pro	Glu	Asn	Lys	Asp	Leu	Val	Phe	Ser	Thr	
Trp	Asp													
							135					140		

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser
 Gly Gly
 145 150 155
 160

Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
 Lys Tyr
 165 170
 175

Asn Lys Pro Arg Ala Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu
 Ser Trp
 180 185 190

Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys
 Met Leu
 195 200 205

Ile His Pro Thr Asp Ser Glu Ser Phe Glu
 210 215

<210> 65
 <211> 230
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 225-455 K423del

<400> 65

Thr Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys
 His Asp
 1 5 10 15

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr
 20 25 30

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
 His Val
 35 40 45

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 50 55 60

Ile Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr
 Lys Tyr
 65 70 75
 80

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 85 90 95

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
 Leu Glu
 100 105 110

Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr
 Leu Gly
 115 120 125

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
 Gly Asn
 130 135 140

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 145 150 155
 160

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 165 170
 175

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 180 185 190

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Ser
 195 200 205

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 210 215 220

Leu Ile His Pro Thr Asp
 225 230

<210> 66
 <211> 229
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 226-455 K423del

<400> 66

Thr Pro Phe Leu Gln Leu Asn Glu Ile Arg Asn Val Lys His
 Asp Gly
 1 5 10 15

Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His
 Thr Ser
 20 25 30

Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His
 Val Tyr
 35 40 45

Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His
 Arg Ile
 50 55 60

Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys
 Tyr Gly
 65 70 75
 80

Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr	85	90	95
Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp	100	105	110
Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn	115	120	125
His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val	130	135	140
Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp	145	150	155
His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly	165	170	
Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr	180	185	190
Asn Lys Pro Arg Ala Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser Trp	195	200	205
Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met Leu	210	215	220

Ile His Pro Thr Asp
225

<210> 67
<211> 227
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 228-455 K423del

<400> 67

Phe	Leu	Gln	Leu	Asn	Glu	Ile	Arg	Asn	Val	Lys	His	Asp	Gly
Ile	Pro												
1				5					10				15

Ala	Glu	Cys	Thr	Thr	Ile	Tyr	Asn	Arg	Gly	Glu	His	Thr	Ser
Gly	Met												
			20					25					30

Tyr	Ala	Ile	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Gln	Val	Phe	His	Val	Tyr
Cys	Asp												
		35					40					45	

Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Pro	Trp	Thr	Leu	Ile	Gln	His	Arg	Ile
Asp	Gly												
	50					55					60		

Ser	Gln	Asn	Phe	Asn	Glu	Thr	Trp	Glu	Asn	Tyr	Lys	Tyr	Gly
Phe	Gly												
65					70					75			
80													

Arg	Leu	Asp	Gly	Glu	Phe	Trp	Leu	Gly	Leu	Glu	Lys	Ile	Tyr
Ser	Ile												
				85					90				95

Val	Lys	Gln	Ser	Asn	Tyr	Val	Leu	Arg	Ile	Glu	Leu	Glu	Asp
Trp	Lys												
			100					105					110

Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn
 His Glu
 115 120 125

Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val
 Pro Asn
 130 135 140

Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp
 His Lys
 145 150 155
 160

Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly
 Trp Trp
 165 170
 175

Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr
 Asn Lys
 180 185 190

Pro Arg Ala Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser Trp
 Lys Ser
 195 200 205

Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met Leu
 Ile His
 210 215 220

Pro Thr Asp
 225

<210> 68
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 233-455 K423del

<400> 68

Glu Ile Arg Asn Val Lys His Asp Gly Ile Pro Ala Glu Cys
 Thr Thr

1 5 10 15

Ile Tyr Asn Arg Gly Glu His Thr Ser Gly Met Tyr Ala Ile
 Arg Pro

20 25 30

Ser Asn Ser Gln Val Phe His Val Tyr Cys Asp Val Ile Ser
 Gly Ser

35 40 45

Pro Trp Thr Leu Ile Gln His Arg Ile Asp Gly Ser Gln Asn
 Phe Asn

50 55 60

Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys Tyr Gly Phe Gly Arg Leu Asp
 Gly Glu

65 70 75
 80

Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys Ile Tyr Ser Ile Val Lys Gln
 Ser Asn

85 90 95

Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu Glu Asp Trp Lys Asp Asn Lys
 His Tyr

100 105 110

Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu Gly Asn His Glu Thr Asn Tyr
 Thr Leu

115 120 125

His Leu Val Ala Ile Thr Gly Asn Val Pro Asn Ala Ile Pro
 Glu Asn

130 135 140

Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr Trp Asp His Lys Ala Lys Gly
 His Phe
 145 150 155
 160

Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser Gly Gly Trp Trp Trp His Asp
 Glu Cys
 165 170
 175

Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly Lys Tyr Asn Lys Pro Arg Ala
 Ser Lys
 180 185 190

Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu Ser Trp Lys Ser Gln Asn Gly
 Arg Leu
 195 200 205

Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys Met Leu Ile His Pro Thr Asp
 210 215 220

<210> 69
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> 241-455 K423del

<400> 69

Gly Ile Pro Ala Glu Cys Thr Thr Ile Tyr Asn Arg Gly Glu
 His Thr
 1 5 10 15

Ser Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe
 His Val
 20 25 30

Tyr Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln
 His Arg
 35 40 45

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

Gly Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu
 Lys Ile
 65 70 75
 80

Tyr Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu
 Leu Glu
 85 90 95

Asp Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr
 Leu Gly
 100 105 110

Asn His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr
 Gly Asn
 115 120 125

Val Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser
 Thr Trp
 130 135 140

Asp His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr
 Ser Gly
 145 150 155
 160

Gly Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn
 Gly Lys
 165 170
 175

Tyr Asn Lys Pro Arg Ala Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly
 Leu Ser
 180 185 190

Trp Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr
 Lys Met
 195 200 205

Leu Ile His Pro Thr Asp
 210

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

<220>
 <223> 242-455 K423del

<400> 70

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

Gly Met Tyr Ala Ile Arg Pro Ser Asn Ser Gln Val Phe His
 Val Tyr
 20 25 30

Cys Asp Val Ile Ser Gly Ser Pro Trp Thr Leu Ile Gln His
 Arg Ile
 35 40 45

Asp Gly Ser Gln Asn Phe Asn Glu Thr Trp Glu Asn Tyr Lys
 Tyr Gly
 50 55 60

Phe Gly Arg Leu Asp Gly Glu Phe Trp Leu Gly Leu Glu Lys
 Ile Tyr
 65 70 75
 80

Ser Ile Val Lys Gln Ser Asn Tyr Val Leu Arg Ile Glu Leu
 Glu Asp
 85 90 95

Trp Lys Asp Asn Lys His Tyr Ile Glu Tyr Ser Phe Tyr Leu
Gly Asn

100

105

110

His Glu Thr Asn Tyr Thr Leu His Leu Val Ala Ile Thr Gly
Asn Val

115

120

125

Pro Asn Ala Ile Pro Glu Asn Lys Asp Leu Val Phe Ser Thr
Trp Asp

130

135

140

His Lys Ala Lys Gly His Phe Asn Cys Pro Glu Gly Tyr Ser
Gly Gly

145

150

155

160

Trp Trp Trp His Asp Glu Cys Gly Glu Asn Asn Leu Asn Gly
Lys Tyr

165

170

175

Asn Lys Pro Arg Ala Ser Lys Pro Glu Arg Arg Arg Gly Leu
Ser Trp

180

185

190

Lys Ser Gln Asn Gly Arg Leu Tyr Ser Ile Lys Ser Thr Lys
Met Leu

195

200

205

Ile His Pro Thr Asp

210

<210> 71

<211> 491

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Met	Lys	Thr	Phe	Thr	Trp	Thr	Leu	Gly	Val	Leu	Phe	Phe	Leu
Leu	Val												
1				5					10				15
Asp	Thr	Gly	His	Cys	Arg	Gly	Gly	Gln	Phe	Lys	Ile	Lys	Lys
Ile	Asn												
			20					25					30
Gln	Arg	Arg	Tyr	Pro	Arg	Ala	Thr	Asp	Gly	Lys	Glu	Glu	Ala
Lys	Lys												
		35					40					45	
Cys	Ala	Tyr	Thr	Phe	Leu	Val	Pro	Glu	Gln	Arg	Ile	Thr	Gly
Pro	Ile												
	50					55					60		
Cys	Val	Asn	Thr	Lys	Gly	Gln	Asp	Ala	Ser	Thr	Ile	Lys	Asp
Met	Ile												
65					70					75			
80													
Thr	Arg	Met	Asp	Leu	Glu	Asn	Leu	Lys	Asp	Val	Leu	Ser	Arg
Gln	Lys												
				85					90				95
Arg	Glu	Ile	Asp	Val	Leu	Gln	Leu	Val	Val	Asp	Val	Asp	Gly
Asn	Ile												
			100					105					110
Val	Asn	Glu	Val	Lys	Leu	Leu	Arg	Lys	Glu	Ser	Arg	Asn	Met
Asn	Ser												
		115					120					125	
Arg	Val	Thr	Gln	Leu	Tyr	Met	Gln	Leu	Leu	His	Glu	Ile	Ile
Arg	Lys												
	130					135					140		
Arg	Asp	Asn	Ser	Leu	Glu	Leu	Ser	Gln	Leu	Glu	Asn	Lys	Ile
Leu	Asn												

26345

145		150		155
160				
Val Thr Thr Glu Met Leu Lys Met Ala Thr Arg Tyr Arg Glu				
Leu Glu				
	165		170	
175				
Val Lys Tyr Ala Ser Leu Thr Asp Leu Val Asn Asn Gln Ser				
Val Met				
	180		185	190
Ile Thr Leu Leu Glu Glu Gln Cys Leu Arg Ile Phe Ser Arg				
Gln Asp				
	195		200	205
Thr His Val Ser Pro Pro Leu Val Gln Val Val Pro Gln His				
Ile Pro				
	210		215	220
Asn Ser Gln Gln Tyr Thr Pro Gly Leu Leu Gly Gly Asn Glu				
Ile Gln				
225		230		235
240				
Arg Asp Pro Gly Tyr Pro Arg Asp Leu Met Pro Pro Pro Asp				
Leu Ala				
	245		250	
255				
Thr Ser Pro Thr Lys Ser Pro Phe Lys Ile Pro Pro Val Thr				
Phe Ile				
	260		265	270
Asn Glu Gly Pro Phe Lys Asp Cys Gln Gln Ala Lys Glu Ala				
Gly His				
	275		280	285
Ser Val Ser Gly Ile Tyr Met Ile Lys Pro Glu Asn Ser Asn				
Gly Pro				

26345

290		295		300									
Met	Gln	Leu	Trp	Cys	Glu	Asn	Ser	Leu	Asp	Pro	Gly	Gly	Trp
Thr	Val												
305					310					315			
320													
Ile	Gln	Lys	Arg	Thr	Asp	Gly	Ser	Val	Asn	Phe	Phe	Arg	Asn
Trp	Glu												
				325					330				
335													
Asn	Tyr	Lys	Lys	Gly	Phe	Gly	Asn	Ile	Asp	Gly	Glu	Tyr	Trp
Leu	Gly												
			340					345					350
Leu	Glu	Asn	Ile	Tyr	Met	Leu	Ser	Asn	Gln	Asp	Asn	Tyr	Lys
Leu	Leu												
		355					360					365	
Ile	Glu	Leu	Glu	Asp	Trp	Ser	Asp	Lys	Lys	Val	Tyr	Ala	Glu
Tyr	Ser												
	370					375					380		
Ser	Phe	Arg	Leu	Glu	Pro	Glu	Ser	Glu	Phe	Tyr	Arg	Leu	Arg
Leu	Gly												
385					390					395			
400													
Thr	Tyr	Gln	Gly	Asn	Ala	Gly	Asp	Ser	Met	Met	Trp	His	Asn
Gly	Lys												
				405						410			
415													
Gln	Phe	Thr	Thr	Leu	Asp	Arg	Asp	Lys	Asp	Met	Tyr	Ala	Gly
Asn	Cys												
			420					425					430
Ala	His	Phe	His	Lys	Gly	Gly	Trp	Trp	Tyr	Asn	Ala	Cys	Ala
His	Ser												

435

440

445

Asn Leu Asn Gly Val Trp Tyr Arg Gly Gly His Tyr Arg Ser
 Lys His
 450 455 460

Gln Asp Gly Ile Phe Trp Ala Glu Tyr Arg Gly Gly Ser Tyr
 Ser Leu
 465 470 475
 480

Arg Ala Val Gln Met Met Ile Lys Pro Ile Asp
 485 490

<210> 72
 <211> 221
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> hANGPTL1 271-491 đầu tận cùng C

<400> 72

Phe Ile Asn Glu Gly Pro Phe Lys Asp Cys Gln Gln Ala Lys
 Glu Ala
 1 5 10 15

Gly His Ser Val Ser Gly Ile Tyr Met Ile Lys Pro Glu Asn
 Ser Asn
 20 25 30

Gly Pro Met Gln Leu Trp Cys Glu Asn Ser Leu Asp Pro Gly
 Gly Trp
 35 40 45

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

Trp Glu Asn Tyr Lys Lys Gly Phe Gly Asn Ile Asp Gly Glu
 Tyr Trp
 65 70 75
 80

Leu Gly Leu Glu Asn Ile Tyr Met Leu Ser Asn Gln Asp Asn
 Tyr Lys
 85 90 95

Leu Leu Ile Glu Leu Glu Asp Trp Ser Asp Lys Lys Val Tyr
 Ala Glu
 100 105 110

Tyr Ser Ser Phe Arg Leu Glu Pro Glu Ser Glu Phe Tyr Arg
 Leu Arg
 115 120 125

Leu Gly Thr Tyr Gln Gly Asn Ala Gly Asp Ser Met Met Trp
 His Asn
 130 135 140

Gly Lys Gln Phe Thr Thr Leu Asp Arg Asp Lys Asp Met Tyr
 Ala Gly
 145 150 155
 160

Asn Cys Ala His Phe His Lys Gly Gly Trp Trp Tyr Asn Ala
 Cys Ala
 165 170
 175

His Ser Asn Leu Asn Gly Val Trp Tyr Arg Gly Gly His Tyr
 Arg Ser
 180 185 190

Lys His Gln Asp Gly Ile Phe Trp Ala Glu Tyr Arg Gly Gly
 Ser Tyr
 195 200 205

Ser Leu Arg Ala Val Gln Met Met Ile Lys Pro Ile Asp

210

215

220

<210> 73
 <211> 406
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 73

Met Ser Gly Ala Pro Thr Ala Gly Ala Ala Leu Met Leu Cys
 Ala Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Arg Phe Ala Ser Trp Asp Glu Met Asn Val Leu Ala His
 Gly Leu

35 40 45

Leu Gln Leu Gly Gln Gly Leu Arg Glu His Ala Glu Arg Thr
 Arg Ser

50 55 60

Gln Leu Ser Ala Leu Glu Arg Arg Leu Ser Ala Cys Gly Ser
 Ala Cys

65 70 75
 80

Gln Gly Thr Glu Gly Ser Thr Asp Leu Pro Leu Ala Pro Glu
 Ser Arg

85 90 95

Val Asp Pro Glu Val Leu His Ser Leu Gln Thr Gln Leu Lys
 Ala Gln

100 105 110

Asn Ser Arg Ile Gln Gln Leu Phe His Lys Val Ala Gln Gln
 Gln Arg

115 120 125

His Leu Glu Lys Gln His Leu Arg Ile Gln His Leu Gln Ser
 Gln Phe
 130 135 140

Gly Leu Leu Asp His Lys His Leu Asp His Glu Val Ala Lys
 Pro Ala
 145 150 155
 160

Arg Arg Lys Arg Leu Pro Glu Met Ala Gln Pro Val Asp Pro
 Ala His
 165 170
 175

Asn Val Ser Arg Leu His Arg Leu Pro Arg Asp Cys Gln Glu
 Leu Phe
 180 185 190

Gln Val Gly Glu Arg Gln Ser Gly Leu Phe Glu Ile Gln Pro
 Gln Gly
 195 200 205

Ser Pro Pro Phe Leu Val Asn Cys Lys Met Thr Ser Asp Gly
 Gly Trp
 210 215 220

Thr Val Ile Gln Arg Arg His Asp Gly Ser Val Asp Phe Asn
 Arg Pro
 225 230 235
 240

Trp Glu Ala Tyr Lys Ala Gly Phe Gly Asp Pro His Gly Glu
 Phe Trp
 245 250
 255

Leu Gly Leu Glu Lys Val His Ser Ile Thr Gly Asp Arg Asn
 Ser Arg
 260 265 270

Leu Ala Val Gln Leu Arg Asp Trp Asp Gly Asn Ala Glu Leu
 Leu Gln
 275 280 285

Phe Ser Val His Leu Gly Gly Glu Asp Thr Ala Tyr Ser Leu
 Gln Leu
 290 295 300

Thr Ala Pro Val Ala Gly Gln Leu Gly Ala Thr Thr Val Pro
 Pro Ser
 305 310 315
 320

Gly Leu Ser Val Pro Phe Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp
 Leu Arg
 325 330
 335

Arg Asp Lys Asn Cys Ala Lys Ser Leu Ser Gly Gly Trp Trp
 Phe Gly
 340 345 350

Thr Cys Ser His Ser Asn Leu Asn Gly Gln Tyr Phe Arg Ser
 Ile Pro
 355 360 365

Gln Gln Arg Gln Lys Leu Lys Lys Gly Ile Phe Trp Lys Thr
 Trp Arg
 370 375 380

Gly Arg Tyr Tyr Pro Leu Gln Ala Thr Thr Met Leu Ile Gln
 Pro Met
 385 390 395
 400

Ala Ala Glu Ala Ala Ser
 405

<210> 74
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> hANGPTL4 179-406

<400> 74

Ser	Arg	Leu	His	Arg	Leu	Pro	Arg	Asp	Cys	Gln	Glu	Leu	Phe
Gln	Val												
1				5					10				15

Gly	Glu	Arg	Gln	Ser	Gly	Leu	Phe	Glu	Ile	Gln	Pro	Gln	Gly
Ser	Pro												
			20					25					30

Pro	Phe	Leu	Val	Asn	Cys	Lys	Met	Thr	Ser	Asp	Gly	Gly	Trp
Thr	Val												
		35					40					45	

Ile	Gln	Arg	Arg	His	Asp	Gly	Ser	Val	Asp	Phe	Asn	Arg	Pro
Trp	Glu												
	50					55					60		

Ala	Tyr	Lys	Ala	Gly	Phe	Gly	Asp	Pro	His	Gly	Glu	Phe	Trp
Leu	Gly												
65					70					75			
80													

Leu	Glu	Lys	Val	His	Ser	Ile	Thr	Gly	Asp	Arg	Asn	Ser	Arg
Leu	Ala												
			85						90				95

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

Val	His	Leu	Gly	Gly	Glu	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ser	Leu	Gln	Leu
Thr	Ala												
		115					120					125	

Pro Val Ala Gly Gln Leu Gly Ala Thr Thr Val Pro Pro Ser
 Gly Leu
 130 135 140

Ser Val Pro Phe Ser Thr Trp Asp Gln Asp His Asp Leu Arg
 Arg Asp
 145 150 155
 160

Lys Asn Cys Ala Lys Ser Leu Ser Gly Gly Trp Trp Phe Gly
 Thr Cys
 165 170
 175

Ser His Ser Asn Leu Asn Gly Gln Tyr Phe Arg Ser Ile Pro
 Gln Gln
 180 185 190

Arg Gln Lys Leu Lys Lys Gly Ile Phe Trp Lys Thr Trp Arg
 Gly Arg
 195 200 205

Tyr Tyr Pro Leu Gln Ala Thr Thr Met Leu Ile Gln Pro Met
 Ala Ala
 210 215 220

Glu Ala Ala Ser
 225

FIG.1

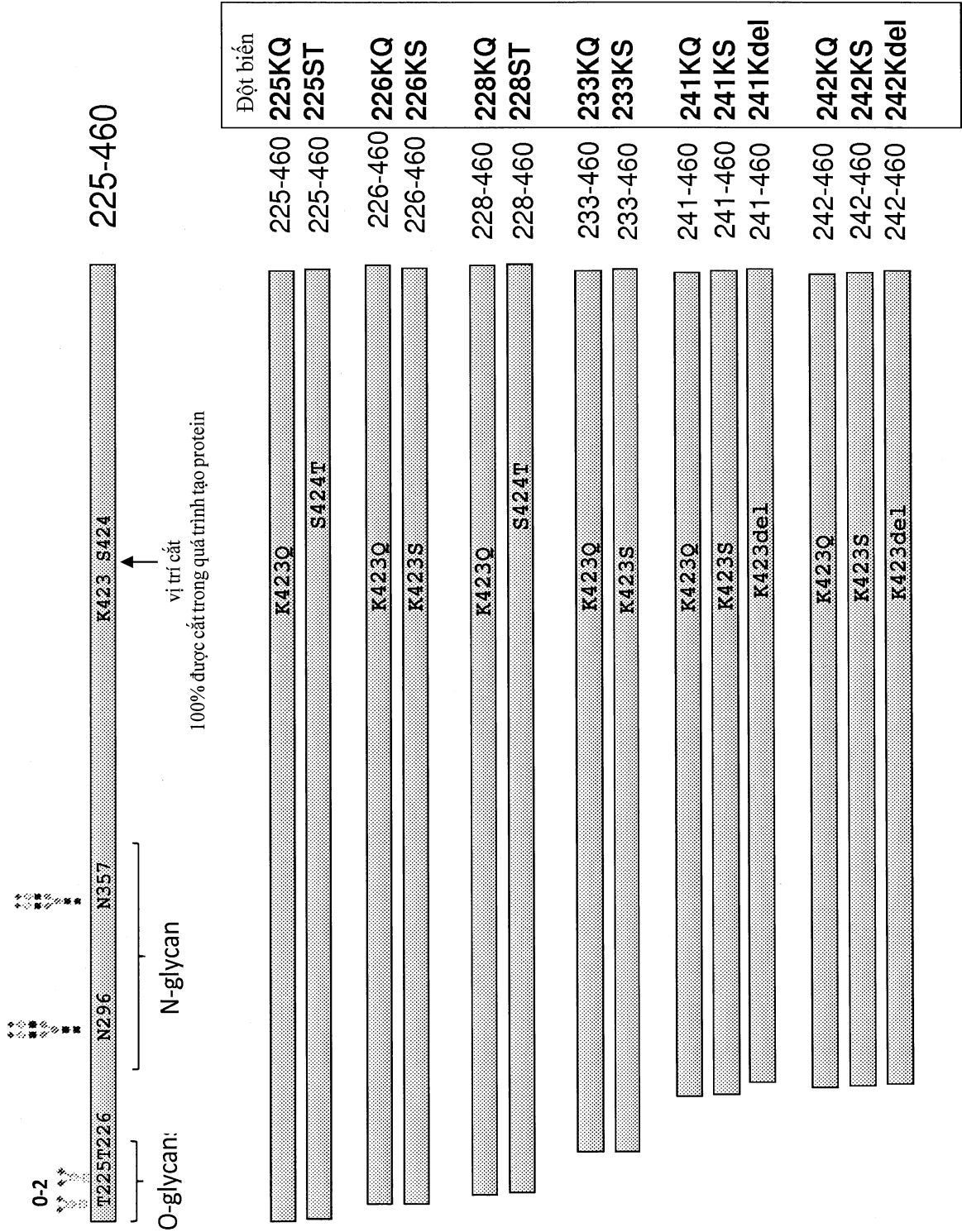


FIG.2

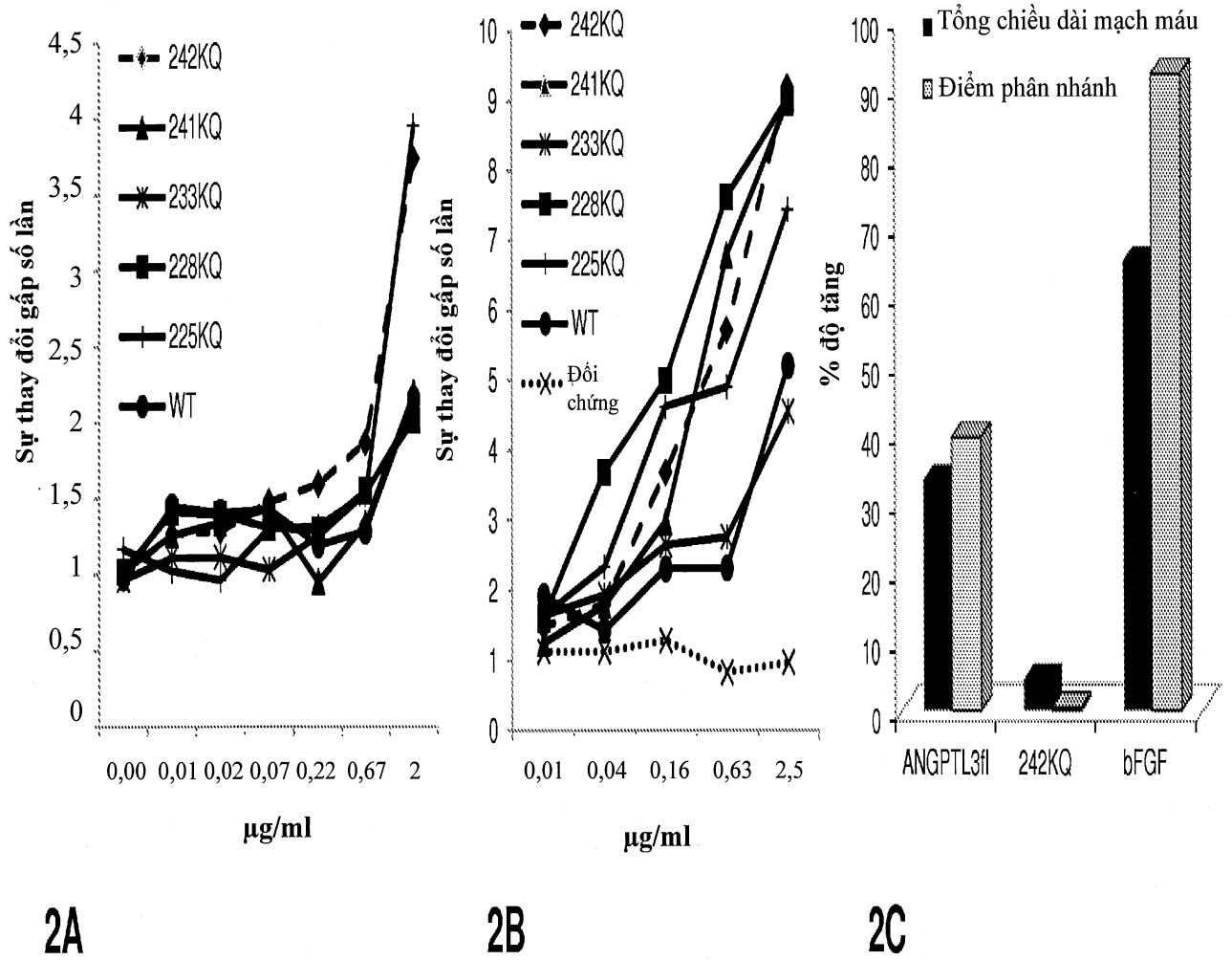


FIG.3

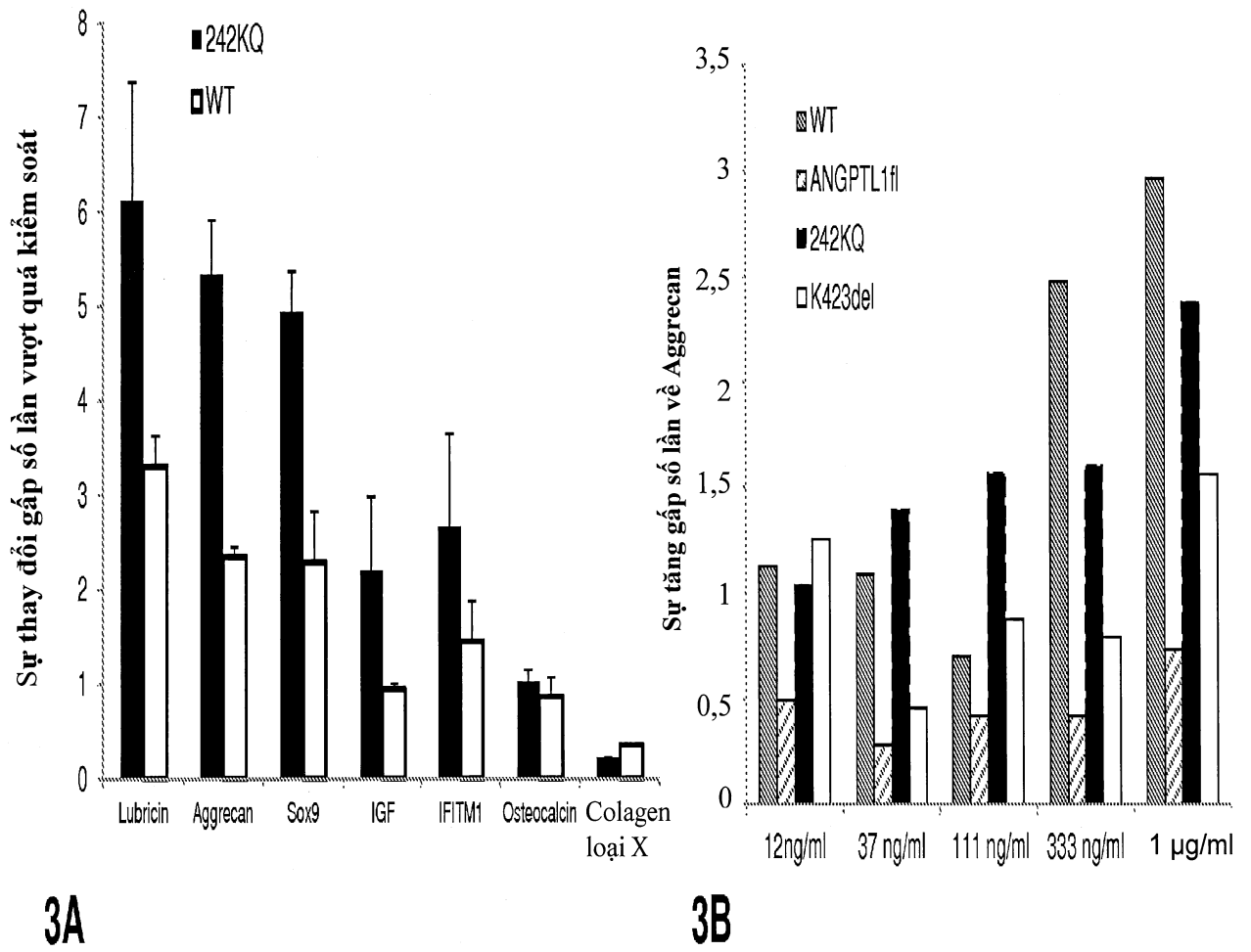


FIG.4

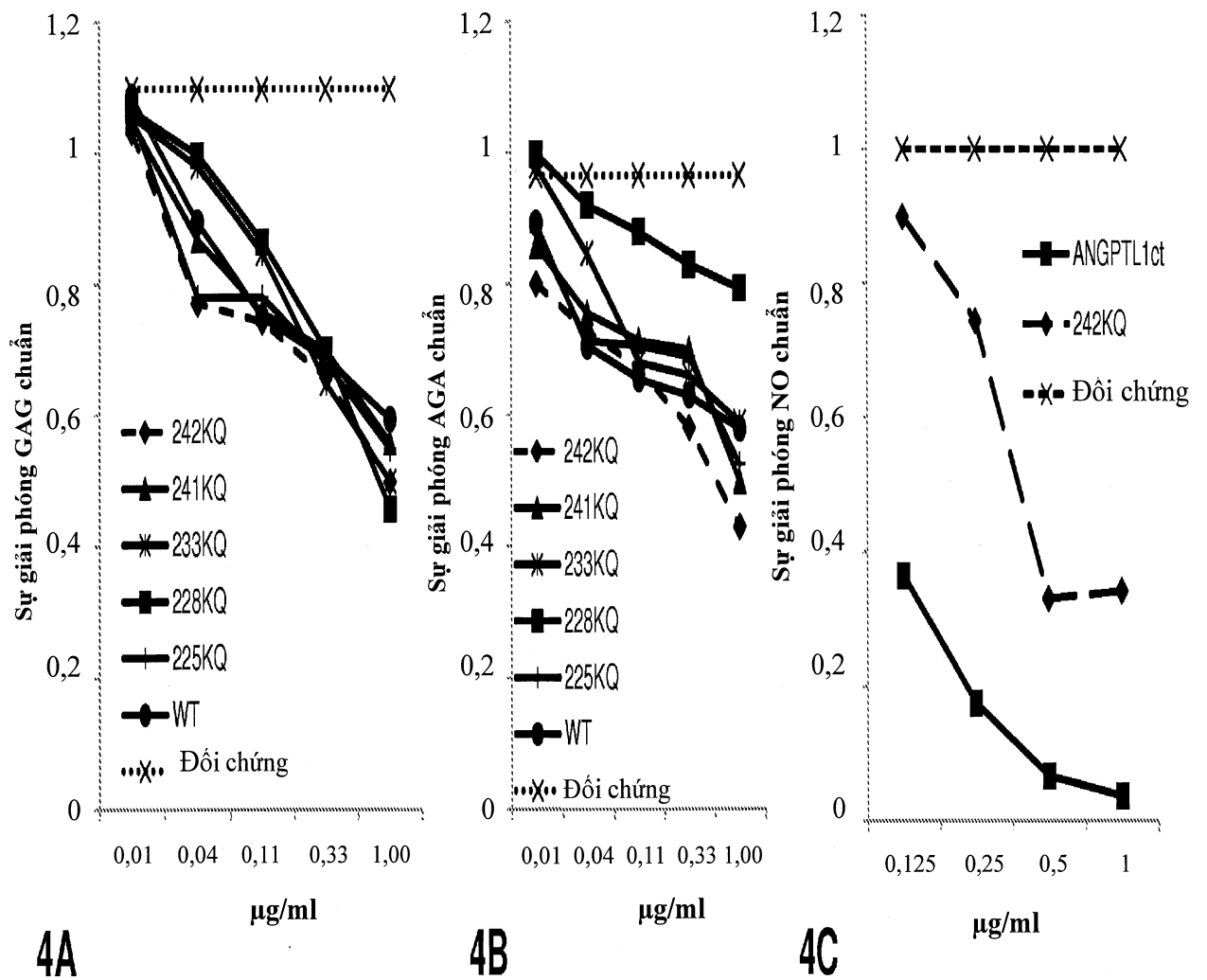
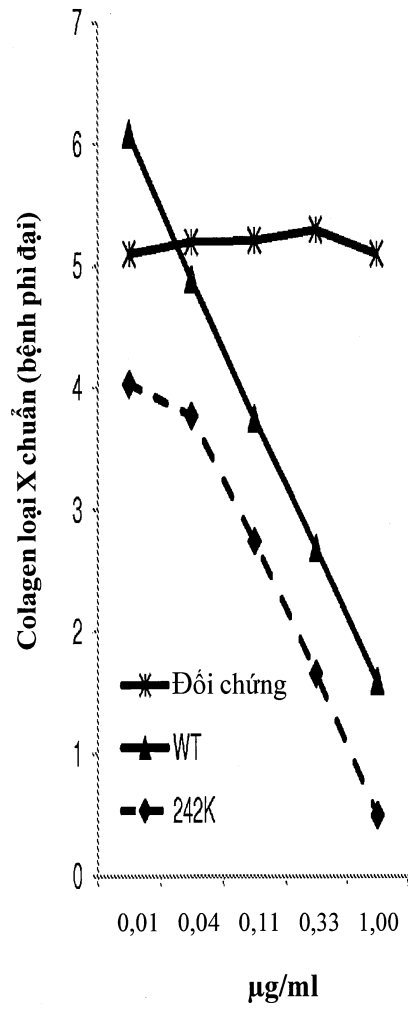
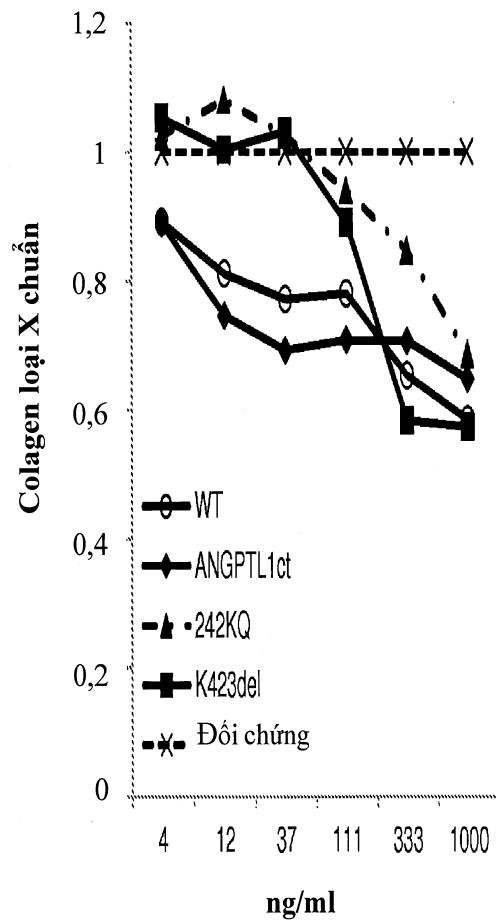


FIG.5

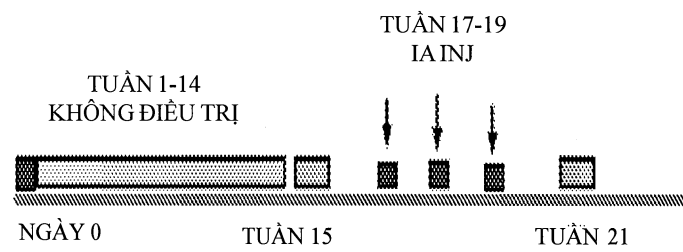


5A

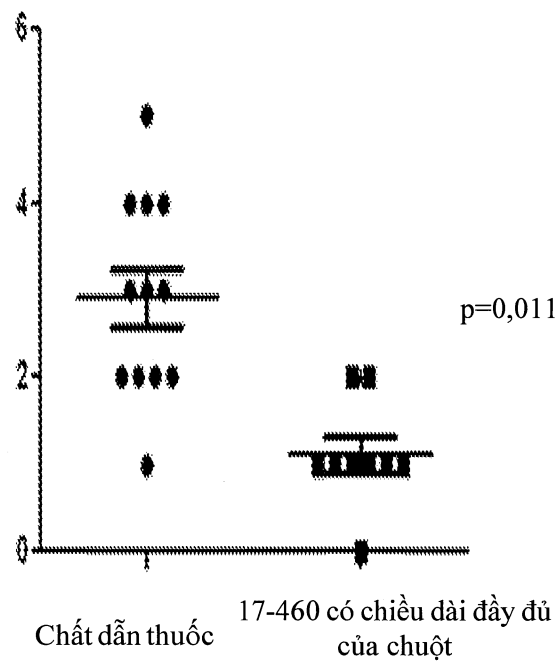


5B

FIG.6



6A



6B

FIG.7

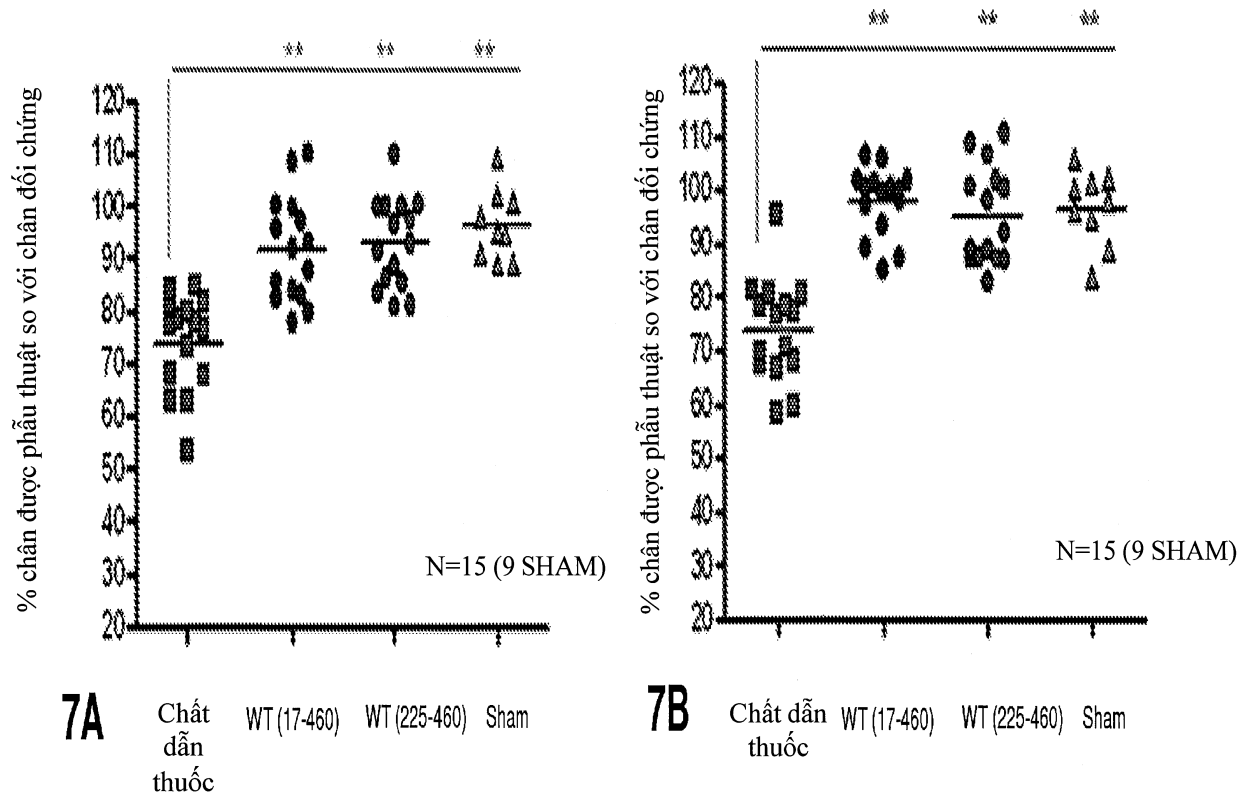


FIG.8

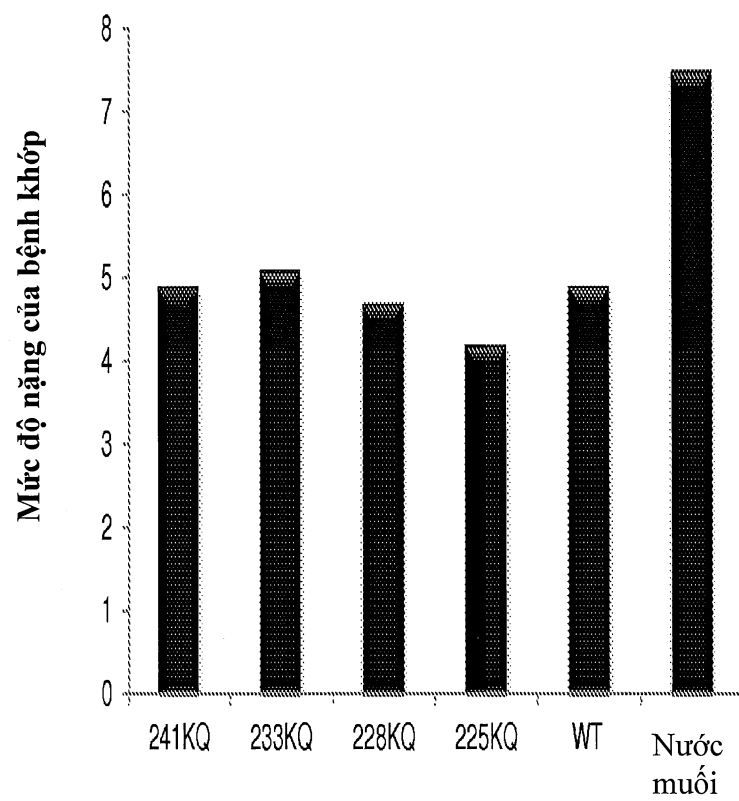


FIG. 9

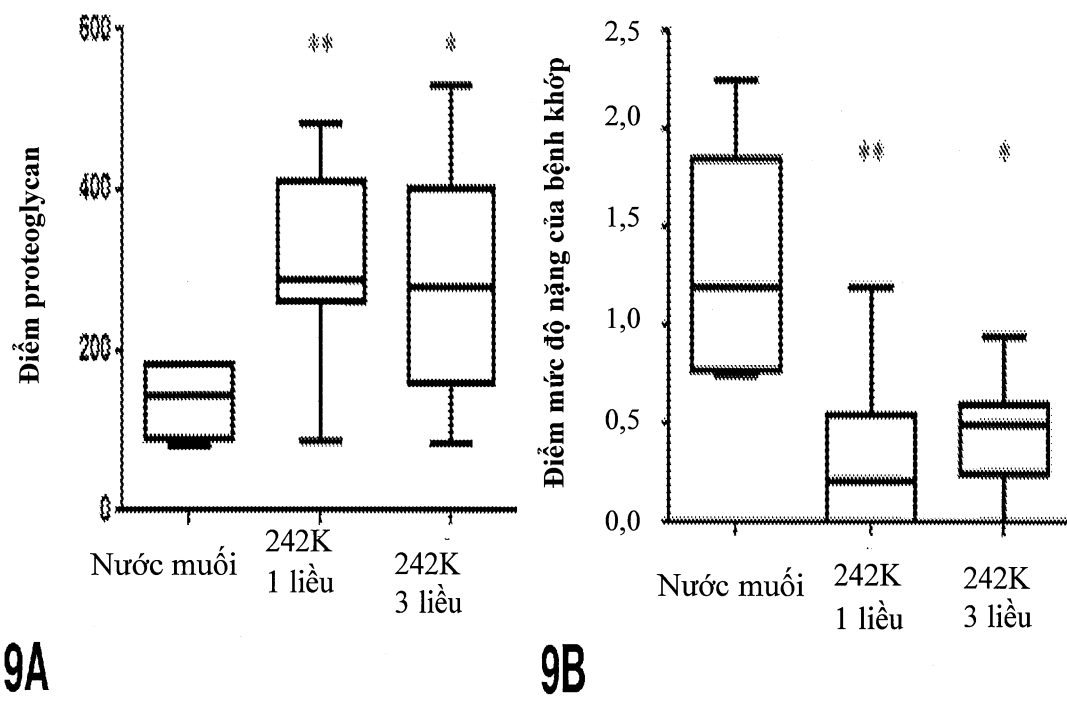


FIG.10

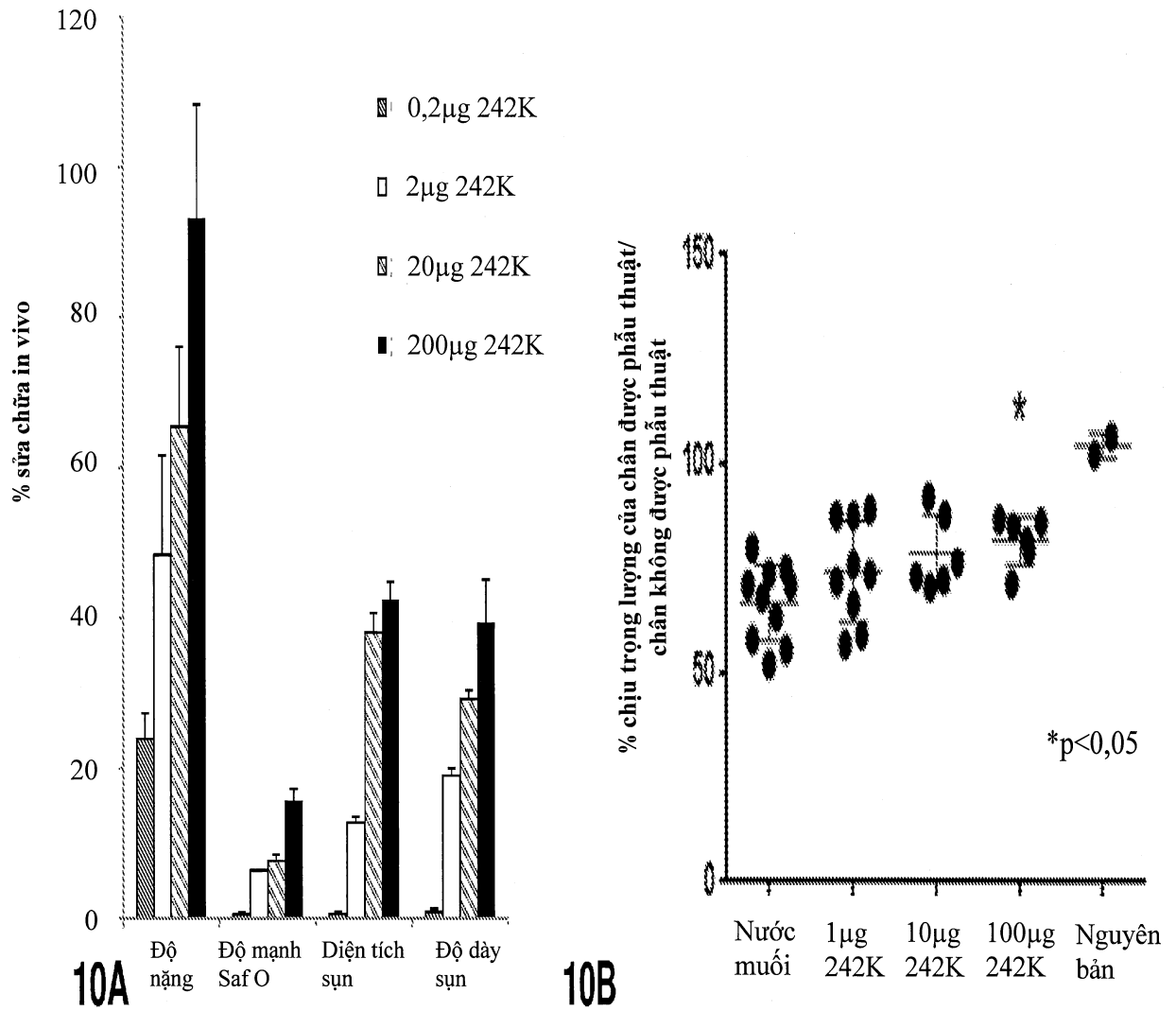


FIG.11

