



(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)



1-0026424

(51)⁷ A61K 41/00; C07K 16/40; C07K 16/28 (13) B

(21) 1-2013-00536

(22) 15/07/2011

(86) PCT/IB2011/002177 15/07/2011

(87) WO/2012/010966 26/01/2012

(30) 2010130348 21/07/2010 RU; 2011127051 01/07/2011 RU

(45) 25/11/2020 392

(43) 25/07/2013 304A

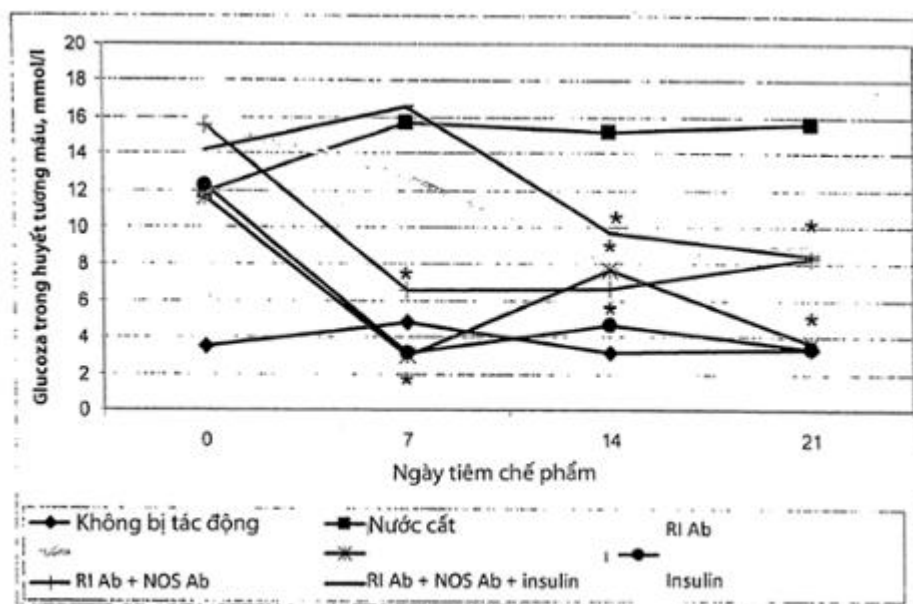
(76) EPSHTEIN, Oleg, Ilich (RU)

4 Samotyochny Per., d.3, kv. 72, Moscow 127473, Russian Federation

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) DƯỢC PHẨM KẾT HỢP ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG VÀ RỐI LOẠN CHUYỂN HÓA

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm kết hợp dùng để điều trị bệnh đái tháo đường và các rối loạn chuyển hóa khác, dược phẩm này bao gồm a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.



* Sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với đối chứng (dùng nước cất), $p < 0,05$

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực y học, cụ thể là đề cập đến dược phẩm để điều trị và ngăn ngừa bệnh đái tháo đường và các rối loạn chuyển hóa khác.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh đái tháo đường là tình trạng bệnh mãn tính được đặc trưng ở dạng chứng tăng glucoza-huyết (hàm lượng đường trong máu cao). Sự gia tăng liên tục mức glucoza trong máu làm tăng nguy cơ của các biến chứng có liên quan đến bệnh đái tháo đường như sự tổn hại thận, mất thị lực, bệnh tim và loét chân.

Có hai loại bệnh đái tháo đường chính: bệnh đái tháo đường typ 1 và bệnh đái tháo đường typ 2. Với bệnh đái tháo đường typ 1, chứng tăng glucoza-huyết phát triển vì tụy không thể sản xuất insulin. Loại bệnh đái tháo đường này thường xuất hiện ở lứa tuổi thơ ấu hoặc tuổi mới trưởng thành. Ở bệnh đái tháo đường typ 2, tụy có khả năng sản xuất insulin, nhưng nó không thể đáp ứng một cách thỏa đáng nhu cầu của cơ thể. Vấn đề là ở chỗ cơ thể không đáp ứng với insulin này một cách thích hợp, mà do điều này dẫn đến glucoza ít được hấp thụ bởi tế bào hơn và gây ra mức glucoza trong máu cao một cách bất thường. Sau khi tụy hoạt động quá sức trong nhiều năm, cuối cùng tụy có thể yếu và không còn khả năng sản xuất insulin, tại thời điểm này người mắc bệnh đái tháo đường typ 2 có thể cần trị liệu insulin.

Insulin, một hormon tự nhiên được sản xuất bởi tụy, vận chuyển glucoza từ dòng máu đến bên trong tế bào. Như vậy, nhiệm vụ chính của insulin là để điều hoà sự vận chuyển glucoza vào tế bào nhờ đó làm giảm mức glucoza máu.

Tác động của insulin được kiểm soát thông qua sự hoạt hóa thụ thể heterotetrame được tìm thấy ở màng huyết tương. Thụ thể insulin là glycoprotein bao gồm hai cấu trúc tiểu đơn vị alpha ngoại bào và hai cấu trúc tiểu đơn vị beta xuyên màng được liên kết bởi liên kết disulfua. Ullrich et al., Nature, 313:756-61, 1985. Các cấu trúc tiểu đơn vị alpha chứa miền liên kết insulin, và phần nội bào của cấu trúc tiểu đơn vị beta chứa tyrosin protein kinaza được điều hòa bởi insulin (enzym xúc tác sự chuyển nhóm năng lượng cao từ thể cho (thường là ATP) đến thể nhận).

Khi phân tử insulin được giải phóng bởi các tế bào beta của tụy và đến tế bào, nó liên kết bên trên thụ thể insulin trên bề mặt của hầu hết các tế bào. Ngay khi insulin liên kết, chức năng phosphotransferaza nội tại của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin được kích hoạt, dẫn đến tyrosin phosphoryl hóa nhiều protein nội bào. Ngay khi thụ thể insulin đã được hoạt hóa, hiện tượng phosphoryl hóa dẫn đến làm tăng sự cất giữ glucoza và do đó làm giảm mức glucoza trong máu.

Việc kiểm soát hữu hiệu mức glucoza là khó đạt được trong thời gian dài ngay cả với cách thức trị liệu insulin chi tiết nhất ở bệnh nhân được tập trung điều trị nhất. Như vậy, có nhu cầu không ngừng đối với các sản phẩm thuốc mới với công hiệu trị liệu mong muốn để điều trị bệnh và các rối loạn chuyển hóa.

Nitơ oxit (NO) là phân tử khí mà đã cho thấy đóng vai trong việc truyền tín hiệu của các quá trình sinh học khác nhau. NO thu được từ nội mô là phân tử chính trong việc điều hòa trương lực mạch và sự liên quan của nó với bệnh mạch đã được ghi nhận từ lâu. NO ức chế nhiều quá trình được biết là liên quan đến sự hình thành của mảng xơ động mạch, bao gồm sự dính bám đơn bào, sự kết tụ tiểu cầu và sự tăng sinh tế bào cơ trơn của mạch. Vai trò quan trọng khác của NO nội mô là sự bảo vệ thành mạch khỏi ứng suất oxy hóa được gây ra bởi chính các sản phẩm chuyển hóa của nó và bởi các sản phẩm oxy hóa của lipid và lipoprotein. Sự loạn chức năng nội mô xảy ra ở giai đoạn rất sớm của chứng xơ động mạch. Do đó, sự thiếu hụt sự NO sẵn có cục bộ có thể là con đường thông thường cuối cùng làm tăng tốc gây xơ mạch ở người. Ngoài vai trò của nó trong nội mô mạch, khả năng NO đã cho thấy là làm điều biến sự trao đổi chất của các lipoprotein. Mọi tương quan không thuận lợi đã được báo cáo giữa các nồng độ huyết tương của các sản phẩm trao đổi chất NO và tổng huyết tương và mức độ cholesterol lipoprotein tỷ trọng thấp - Low Density Lipoprotein [LDL] trong khi lipoprotein tỷ trọng cao - High Density Lipoprotein [HDL] làm cải thiện chức năng mạch ở các đối tượng tăng cholesterol huyết. Sự mất NO đã có tác dụng đáng kể đối với sự phát triển của bệnh. Bệnh đái tháo đường có liên quan đến tỷ lệ tử vong cao và tỷ lệ tử vong chủ yếu là do sự phát triển tăng tốc của bệnh xơ động mạch. Ngoài ra, các báo cáo đã chỉ ra rằng bệnh đái tháo đường đã làm suy yếu chức năng thận. Đã có đề xuất rằng sự kháng insulin dẫn đến viêm đường thở. Habib et al., Nitric Oxide Measurement From Blood To Lungs, Is There A Link? Pak J Physiol 2007; 3 (1).

Nitơ oxit được tổng hợp bởi nội mô từ L-arginin nhờ nitơ oxit syntaza (NO syntaza). NO syntaza xuất hiện ở các isoform khác nhau, bao gồm dạng cấu thành (cNOS) và dạng có thể gây cảm ứng (iNOS). Dạng cấu thành này có mặt trong các tế bào nội mô bình thường, các neuron và một số các mô khác.

Tác dụng trị liệu của dạng pha loãng cực hạn (hoặc cực thấp) của các kháng thể được tăng cường hiệu lực bởi kỹ thuật vi lượng đồng căn đã được phát hiện bởi tác giả sáng chế, Dr. Oleg I. Epshtein. US 7,582,294 đã bộc lộ thuốc để điều trị chứng tăng sản tuyến tiền liệt lành tính hoặc chứng viêm tuyến tiền liệt bằng cách sử dụng dạng được hoạt hóa theo cách vi lượng đồng căn của các kháng thể kháng kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSA). US 7,700,096 bộc lộ dạng được tăng cường hiệu lực theo phép vi lượng đồng căn của các kháng thể kháng NO-syntaza nội mô. Dạng được tăng cường hiệu lực theo phép vi lượng đồng căn của các kháng thể kháng NO-syntaza nội mô được bán trên thị trường ở Liên bang Nga và các quốc gia khác dưới tên Impaza®.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm để sử dụng cho bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường và các rối loạn chuyển hóa khác, được phẩm này bao gồm a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm để sử dụng cho bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường và các rối loạn chuyển hóa khác, được phẩm này bao gồm a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

Theo một phương án, được phẩm theo khía cạnh này của sáng chế bao gồm a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô, trong đó phân tử thụ thể insulin bao gồm ít nhất một cấu trúc tiểu đơn vị alpha và ít nhất một cấu trúc tiểu đơn vị beta.

Theo một phương án, được phẩm theo khía cạnh này của sáng chế bao gồm dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu

trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người hoặc dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người dưới dạng hỗn hợp của các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn C12, C30, và C200 được tẩm lên trên chất mang rắn. Dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô dưới dạng hỗn hợp của các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn C12, C30, và C200 sau đó có thể được tẩm lên trên chất mang rắn.

Theo phương án khác, dược phẩm theo khía cạnh này của sáng chế bao gồm dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô là dưới dạng hỗn hợp của các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn C12, C30, và C200 được tẩm lên trên chất mang rắn. Dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người hoặc dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người là dưới dạng hỗn hợp của các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn C12, C30, và C200 sau đó có thể được tẩm lên trên chất mang rắn.

Tốt hơn là, dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người hoặc dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người là kháng thể đơn dòng, đa dòng hoặc tự nhiên, tốt hơn nữa nếu là, kháng thể đa dòng. Theo một phương án theo khía cạnh này của sáng chế, dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người hoặc dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người được điều chế bằng cách pha loãng liên tiếp theo phần trăm kết hợp lacc mỗi lần pha loãng.

Tốt hơn là, dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô là kháng thể đơn dòng, đa dòng hoặc tự nhiên, tốt hơn nữa nếu là, kháng thể đa dòng. Theo một phương án theo khía cạnh này của sáng chế, dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô được điều chế bằng cách pha loãng liên tiếp theo phần trăm kết hợp lacc mỗi lần pha loãng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường, Typ I, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho bệnh nhân hỗn

hợp chứa a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường Typ I, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho bệnh nhân hỗn hợp chứa a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề mô tả phương pháp điều trị bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường, Typ II, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho bệnh nhân hỗn hợp chứa a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường Typ II, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho bệnh nhân hỗn hợp chứa a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp giảm mức glucoza trong máu ở động vật có vú, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho động vật có vú hỗn hợp chứa a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp giảm mức glucoza trong máu ở động vật có vú, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho động vật có vú hỗn hợp chứa a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị tính kháng insulin ở động vật có vú, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho động vật có vú hỗn hợp chứa a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể

insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị tính kháng insulin ở động vật có vú, phương pháp này bao gồm bước sử dụng cho động vật có vú hỗn hợp chứa a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người, và b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

Theo một phương án theo khía cạnh này của sáng chế, sáng chế mô tả việc sử dụng từ một đến hai dạng liều lượng đơn vị của dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người hoặc dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người, và từ một đến hai dạng liều lượng đơn vị của dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô, mỗi dạng liều lượng này được sử dụng từ một lần một ngày đến bốn lần một ngày. Tốt hơn là, một đến hai dạng liều lượng đơn vị của mỗi trong số các dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của các kháng thể được sử dụng hai lần một ngày.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 - Minh họa mức độ ảnh hưởng của các chế phẩm được thử nghiệm đến mức glucoza trong huyết tương máu của chuột mắc bệnh đái tháo đường do streptozotocin gây ra.

Fig. 2 - Minh họa mức độ ảnh hưởng của các chế phẩm được thử nghiệm vào ngày tiêm thứ 14 đến các chỉ số của diện tích dưới đường cong nồng độ-thời gian (AUC) trong thử nghiệm dung nạp glucoza ở chuột mắc bệnh đái tháo đường do streptozotocin gây ra.

Fig. 3 - Minh họa mức độ ảnh hưởng của các chế phẩm được thử nghiệm đến mức glucoza trong huyết tương máu của chuột mắc bệnh đái tháo đường tự phát không phụ thuộc insulin.

Fig. 4 - Minh họa mức độ ảnh hưởng của các chế phẩm được thử nghiệm vào ngày tiêm thứ 28 đến các chỉ số của diện tích dưới đường cong nồng độ-thời gian

(AUC) trong thử nghiệm dung nạp glucoza ở chuột mắc bệnh đái tháo đường tự phát không phụ thuộc insulin.

Fig. 5 – Minh họa động lực học của mức glucoza và hemoglobin được glycolat hóa ở bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường typ 1 đối với trường hợp nhận được chế phẩm IR Ab + NOS Ab.

Fig. 6 - Minh họa động lực học của mức glucoza và hemoglobin được glycolat hóa ở bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường typ 2 đối với trường hợp nhận được chế phẩm IR Ab + NOS Ab.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế được xác định dựa trên các điểm yêu cầu bảo hộ đính kèm. Đối với các điểm yêu cầu bảo hộ này, phần chú giải thuật ngữ sau đây đưa ra các định nghĩa có liên quan.

Thuật ngữ “kháng thể” theo sáng chế có nghĩa là globulin miễn dịch liên kết đặc hiệu với, và nhờ đó được xác định là bổ sung với, sự sắp xếp không gian cụ thể và có cực của phân tử khác. Các kháng thể như được trích dẫn trong các điểm yêu cầu bảo hộ có thể bao gồm globulin miễn dịch đầy đủ hoặc mảnh của chúng, có thể là tự nhiên, đa dòng hoặc đơn dòng, và có thể gồm nhiều lớp và isotyp khác nhau, như IgA, IgD, IgE, IgG1, IgG2a, IgG2b và IgG3, IgM, v.v.. Các mảnh của chúng có thể bao gồm Fab, Fv và F(ab')₂, Fab', và các mảnh tương tự. Cụm từ số ít “kháng thể” bao gồm cả nghĩa số nhiều “các kháng thể.”

Thuật ngữ “dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” hoặc “dạng được tăng cường hiệu lực”, một cách tương ứng, liên quan đến các kháng thể được trích dẫn theo sáng chế được sử dụng để chỉ sản phẩm của sự tăng cường hiệu lực theo phép vi lượng đồng căn của dung dịch ban đầu bất kỳ của các kháng thể. “Sự tăng cường hiệu lực theo phép vi lượng đồng căn” biểu thị việc sử dụng phương pháp của phép chữa vi lượng đồng căn để truyền công hiệu vi lượng đồng căn cho dung dịch ban đầu của chất có liên quan. Mặc dù không bị giới hạn như vậy, ‘sự tăng cường hiệu lực theo phép vi lượng đồng căn’ có thể bao gồm, ví dụ, pha loãng lặp lại liên tiếp kết hợp với xử lý bên ngoài, cụ thể lắng (cơ học). Theo cách khác, dung dịch ban đầu của kháng thể được pha loãng liên tiếp lặp lại và lắng nhiều lần theo phương thẳng đứng mỗi dung dịch thu được theo kỹ thuật vi lượng đồng căn. Nồng độ được ưu tiên của dung dịch ban đầu

của kháng thể trong dung môi, tốt hơn là, nước hoặc hỗn hợp nước-rượu etylic, nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 đến khoảng 5,0 mg/ml. Quy trình được ưu tiên để điều chế mỗi thành phần, tức là dung dịch kháng thể, là sử dụng hỗn hợp của ba dung dịch pha loãng gốc nước hoặc gốc nước-rượu của dung dịch nền ban đầu (còn ngọt nước cái) của các kháng thể được pha loãng 100^{12} , 100^{30} và 100^{200} lần, một cách tương ứng, tương đương với các lần pha loãng theo phép vi lượng đồng căn theo phần trăm (C12, C30, và C200) hoặc việc sử dụng hỗn hợp của ba dung dịch pha loãng gốc nước hoặc gốc nước-rượu của dung dịch nền sơ cấp của các kháng thể được pha loãng 100^{12} , 100^{30} và 100^{50} lần, một cách tương ứng, tương đương với các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn theo phần trăm (C12, C30 và C50). Ví dụ về sự tăng cường hiệu lực theo phép vi lượng đồng căn được mô tả trong US 7,572,441 và US 7,582,294, các tài liệu này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn. Trong khi thuật ngữ “dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” được sử dụng trong các điểm yêu cầu bảo hộ, thuật ngữ “liều cực thấp” được sử dụng trong phần các ví dụ. Thuật ngữ “liều cực thấp” trở thành thuật ngữ kỹ thuật trong lĩnh vực kỹ thuật này được tạo ra bởi việc nghiên cứu và sử dụng dạng được pha loãng và được tăng cường hiệu lực theo phép vi lượng đồng căn của chất. Thuật ngữ “liều cực thấp” hoặc “các liều cực thấp” đồng nghĩa hoàn toàn và cơ bản với thuật ngữ dạng ‘được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực’ được sử dụng trong các điểm yêu cầu bảo hộ.

Theo cách khác, kháng thể là ở dạng “được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” khi có mặt ba yếu tố sau. Thứ nhất, dạng “được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” của kháng thể là sản phẩm của quy trình điều chế đã được chấp nhận trong kỹ thuật vi lượng đồng căn. Thứ hai, dạng “được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” của kháng thể phải có hoạt tính sinh học như được xác định bằng các phương pháp được chấp nhận trong dược lý học hiện đại. Và thứ ba, hoạt tính sinh học được thể hiện bởi dạng “được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” của kháng thể không thể được giải thích bởi sự có mặt của dạng phân tử của kháng thể trong sản phẩm sau cùng của quy trình vi lượng đồng căn.

Ví dụ, dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể có thể được điều chế bằng cách cho kháng thể đã được phân lập, ban đầu ở dạng phân tử qua nhiều lần pha loãng liên tiếp kết hợp với tác động bên ngoài, như lắc cơ học. Việc xử lý bên ngoài trong quá trình làm giảm nồng độ cũng có thể được thực hiện, ví dụ, bằng

cách cho tiếp xúc với siêu âm, điện từ, hoặc các yếu tố vật lý khác. V. Schwabe "Homeopathic medicines", M., 1967, US 7,229,648 và US 4,311,897, các tài liệu này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn, mô tả các quy trình như vậy là các phương pháp tăng cường hiệu lực theo phép vi lượng đồng căn đã được chấp nhận trong kỹ thuật vi lượng đồng căn. Quy trình này dẫn đến sự giảm đồng đều trong nồng độ phân tử của dạng phân tử ban đầu của kháng thể. Quy trình này được lặp lại cho đến khi thu được công hiệu vi lượng đồng căn mong muốn. Đối với kháng thể riêng rẽ, công hiệu vi lượng đồng căn được yêu cầu có thể được xác định bằng cách cho các dung dịch pha loãng trung gian qua thử nghiệm sinh học trong mô hình thử nghiệm được lý mong muốn. Mặc dù không bị giới hạn như vậy, 'sự tăng cường hiệu lực theo phép vi lượng đồng căn' có thể gồm, ví dụ, pha loãng lặp lại liên tiếp kết hợp với xử lý bên ngoài, cụ thể lắc theo phương thẳng đứng (cơ học). Theo cách khác, dung dịch ban đầu của kháng thể được pha loãng liên tiếp lặp lại và lắc nhiều lần theo phương thẳng đứng mỗi dung dịch thu được theo kỹ thuật vi lượng đồng căn. Nồng độ được ưu tiên của dung dịch ban đầu của kháng thể trong dung môi, tốt hơn là, nước hoặc hỗn hợp nước-rượu etylic, nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 đến khoảng 5,0 mg/ml. Quy trình được ưu tiên để điều chế mỗi thành phần, tức là dung dịch kháng thể, là sử dụng hỗn hợp của ba dung dịch pha loãng trong nước hoặc nước-rượu của dung dịch nền ban đầu (cồn ngọt nước cái) của các kháng thể được pha loãng 100^{12} , 100^{30} và 100^{200} lần, một cách tương ứng, tương đương với các lần pha loãng theo phép vi lượng đồng căn theo phần trăm C12, C30 và C200 hoặc hỗn hợp của ba dung dịch pha loãng trong nước hoặc nước-rượu của dung dịch nền ban đầu (cồn ngọt nước cái) của các kháng thể được pha loãng 100^{12} , 100^{30} và 100^{50} lần, một cách tương ứng, tương đương với các lần pha loãng theo phép vi lượng đồng căn theo phần trăm C12, C30 và C50. Ví dụ về cách để thu được công hiệu mong muốn cũng được đưa ra, ví dụ, trong các Patent Mỹ số 7,229,648 và 4,311,897, tài liệu này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn. Quy trình có thể áp dụng được cho dạng "được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực" của các kháng thể được nêu theo sáng chế được bộc lộ chi tiết hơn dưới đây.

Có nhiều vấn đề bàn cãi đáng kể về việc điều trị theo phép vi lượng đồng căn đối tượng là người. Mặc dù sáng chế dựa trên các quy trình vi lượng đồng căn đã được chấp nhận để thu được dạng "được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực" của các kháng thể, sáng chế không đơn nhất dựa vào phép chữa theo cách vi lượng đồng căn ở

đối tượng là người để chứng tỏ hoạt tính. Các tác giả sáng chế của đơn sáng chế này đã ngạc nhiên phát hiện ra rằng và các mô hình thử nghiệm được lý đã được chấp nhận đã chứng minh một cách đầy đủ rằng dung môi thu được sau cùng từ nhiều lần pha loãng liên tiếp dạng phân tử ban đầu của kháng thể có hoạt tính cuối cùng không có liên quan đến sự có mặt của các lượng vết của dạng phân tử của kháng thể này trong dung dịch pha loãng đích. Dạng “được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” của kháng thể được đề xuất theo sáng chế được kiểm tra về hoạt tính sinh học trong mô hình thử nghiệm hoạt tính được lý đã được chấp nhận, trong các thử nghiệm *in vitro* thích hợp, hoặc *in vivo* trong mô hình thử nghiệm ở động vật thích hợp. Các thử nghiệm được đưa ra thêm dưới đây cung cấp bằng chứng về hoạt tính sinh học trong các mô hình thử nghiệm như vậy. Các nghiên cứu lâm sàng ở người, cũng được đưa ra dưới đây, là bằng chứng rằng hoạt tính được quan sát trong mô hình thử nghiệm ở động vật được biến chuyển thành trị liệu ở người. Nghiên cứu ở người cũng đưa ra bằng chứng về sự sẵn có của dạng “được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” được nêu theo sáng chế để điều trị các bệnh hoặc rối loạn đặc trưng ở người đã được chấp nhận là các tình trạng bệnh lý trong ngành y học.

Tương tự, dạng “được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” của kháng thể như được yêu cầu bảo hộ bao gồm duy nhất dung dịch hoặc chế phẩm rắn mà hoạt tính sinh học của nó không thể được giải thích bởi sự có mặt của dạng phân tử của kháng thể còn lại từ dung dịch bắt đầu, ban đầu. Theo cách khác, mặc dù đề xuất rằng dạng “được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” của kháng thể có thể chứa các lượng vết của dạng phân tử ban đầu của kháng thể, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này không thể quy hoạt tính sinh học quan sát được trong các mô hình thử nghiệm được lý đã được chấp nhận cho dạng phân tử còn lại của kháng thể với mức độ tin cậy bất kỳ do nồng độ cực kỳ thấp của dạng phân tử của kháng thể còn lại sau khi pha loãng liên tiếp. Mặc dù sáng chế không bị giới hạn bởi lý thuyết cụ thể bất kỳ, hoạt tính sinh học của dạng “được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” của các kháng thể theo sáng chế không thể quy cho dạng phân tử ban đầu của kháng thể. Được ưu tiên là dạng “được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực” của kháng thể ở dạng lỏng hoặc rắn trong đó nồng độ của dạng phân tử ban đầu của kháng thể là dưới giới hạn phát hiện của kỹ thuật phân tích đã được chấp nhận, như điện di mao dẫn và sắc ký lỏng cao áp. Được đặc biệt ưu tiên là dạng “được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực”

của kháng thể ở dạng lỏng hoặc rắn trong đó nồng độ của dạng phân tử ban đầu của kháng thể là dưới số Avogadro. Trong dược lý học của các dạng phân tử của các chất trị liệu, thông lệ phổ biến là tạo ra đường cong đáp ứng liều lượng trong đó mức đáp ứng dược lý được vẽ đồ thị so với nồng độ của thuốc hoạt tính được sử dụng cho đối tượng hoặc được thử nghiệm *in vitro*. Mức tối thiểu của thuốc mà tạo ra đáp ứng phát hiện được bất kỳ được biết là liều ngưỡng. Cụ thể được bao gồm và được ưu tiên là dạng “dược hoạt hóa-dược tăng cường hiệu lực” của các kháng thể chứa kháng thể phân tử, nếu có, ở nồng độ dưới liều ngưỡng đối với dạng phân tử của kháng thể trong mô hình thử nghiệm sinh học đã cho.

Sáng chế đề xuất được phẩm để sử dụng cho bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường và các rối loạn chuyển hóa khác, bao gồm a) dạng dược hoạt hóa-dược tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người hoặc dạng dược hoạt hóa-dược tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người và b) dạng dược hoạt hóa-dược tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô. Như được nêu trên đây theo sáng chế, các ứng dụng y tế riêng rẽ của chính mỗi trong số các thành phần riêng rẽ của hỗn hợp nhìn chung là đã được biết. Tuy nhiên, các tác giả sáng chế đã bất ngờ phát hiện ra rằng việc sử dụng hỗn hợp này là hữu ích trong điều trị bệnh nhân bị bệnh đái tháo đường và kháng insulin và còn làm giảm mức glucoza trong máu. Mặc dù người nộp đơn không bị ràng buộc bởi lý thuyết này, giả thuyết “chất tăng tốc” giả định rằng bệnh đái tháo đường Typ I (DM) và bệnh đái tháo đường Typ II là cùng loại bệnh được đặc trưng bởi tính kháng insulin, sự phát triển của nó thành DM Typ I và DM Typ II được xác định bởi kiểu gen của bệnh nhân. Giả thuyết này không phủ nhận vai trò của các quá trình tự miễn dịch; tuy nhiên, nó loại bỏ nghi ngờ về vai trò căn bản của nó. Giả thuyết “chất tăng tốc” chia bệnh đái tháo đường Typ I và Typ II theo tốc độ tiến triển: với bệnh đái tháo đường Typ I, sự phát triển nhanh chóng của các thay đổi bệnh lý quyết định sự bắt đầu sớm hơn của các biểu lộ triệu chứng bệnh lâm sàng. Giả thuyết này được đề xuất lần đầu tiên vào năm 2001 và hiện nay được xác nhận bằng các kết quả của 6 thử nghiệm lâm sàng độc lập (xem Wilkin, T.J. The accelerator hypothesis: a review of the evidence for insulin resistance as the basis for type [I] as well as type II diabetes. *International Journal for Obesity*. 2009: Vol. 33 - p. 716-726.). Đóng vai trò chủ chốt trong sự phát sinh bệnh của cả hai loại bệnh đái tháo đường là tính kháng

insulin, độ giảm của nó dẫn đến sự giảm quá trình diễn biến lâm sàng của cả bệnh đái tháo đường Typ I và bệnh đái tháo đường Typ II (xem Cellular mechanisms of insulin resistance. World Congress on Insulin Resistance Syndrome, 2009, Diabetes Care. 2010: Vol. 33, N8, pp. 103-108.). Vai trò của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin trong con đường tín hiệu insulin là đã được biết. Sau sự liên kết với thụ thể và sự hoạt hóa cấu trúc tiểu đơn vị beta, con đường này có thể đi theo hai hướng khác nhau: phosphatidylinositol 3-kinaza (PI 3- K) hoặc MAP kinaza (MAP- K). Con đường thứ nhất dường như cần thiết cho việc hiểu rõ phần lớn các tác động chuyển hóa và chống hiện tượng gây chết tế bào theo chương trình của insulin, và con đường thay thế có liên quan với tác động không phải chuyển hóa, tăng sinh và nguyên phân của nó. Trong tính kháng insulin, đã cho thấy rằng chỉ có tính kháng insulin chuyển hóa, được liên kết với sự hoạt hóa cấu trúc tiểu đơn vị beta cùng với con đường P13-K, đóng vai trò quan trọng trong việc xác định sự phát triển của bệnh đái tháo đường. (Xem Muntoni, S, Muntoni, S. Insulin Resistance: Pathophysiology and Rationale for Treatment, Ann. Nutr. Metab. 2011: Vol. 58, N1, pp. 25-36). Dược phẩm như được yêu cầu bảo hộ đảm bảo tác động đến tính kháng insulin chuyển hóa.

Dược phẩm theo khía cạnh này của sáng chế có thể ở dạng lỏng hoặc ở dạng rắn. Mỗi trong số các dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể được bao gồm trong dược phẩm được điều chế từ dạng phân tử ban đầu của kháng thể thông qua quy trình được chấp nhận trong kỹ thuật vi lượng đồng căn. Kháng thể khởi đầu có thể là kháng thể đơn dòng, hoặc đa dòng được điều chế theo các quy trình đã biết, ví dụ, như được mô tả trong Immunotechniques, G. Frimel, M., "Meditsyna", 1987, p. 9-33; "Hum. Antibodies. Monoclonal and recombinant antibodies, 30 years after" bởi Laffly E., Sodoyer R. – 2005 – Vol. 14. – N 1-2. P.33-55, cả hai tài liệu này đều được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

Các kháng thể đơn dòng có thể thu được, ví dụ, bằng kỹ thuật tế bào lai. Giai đoạn ban đầu của quy trình này gồm gây miễn dịch dựa trên các nguyên tắc đã được phát triển trong quy trình điều chế kháng huyết thanh đa dòng. Các giai đoạn thực hiện khác bao gồm sản xuất các tế bào lai tạo ra các dòng vô tính của các kháng thể với tính đặc hiệu đồng nhất. Việc phân lập riêng rẽ chúng được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp giống như trong trường hợp điều chế kháng huyết thanh đa dòng.

Các kháng thể đa dòng có thể thu được thông qua việc gây miễn dịch chủ động động vật. Đối với mục đích này, ví dụ, các động vật thích hợp (ví dụ thỏ) nhận được một chuỗi các dung dịch tiêm chứa kháng nguyên thích hợp, NO-syntaza nội mô và mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người hoặc NO-syntaza nội mô và thụ thể insulin ở người. Hệ miễn dịch của động vật tạo ra các kháng thể tương ứng, mà được thu gom từ động vật theo cách đã biết. Quy trình này có thể điều chế huyết thanh giàu kháng thể đơn đặc hiệu. Nếu muốn, huyết thanh chứa kháng thể có thể được tinh chế, ví dụ, bằng cách sử dụng sắc ký ái lực, cắt phân đoạn bằng sự kết tủa muối hoặc sắc ký trao đổi ion. Huyết thanh giàu kháng thể, đã được tinh chế thu được có thể được sử dụng làm nguyên liệu khởi đầu để điều chế dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của các kháng thể. Nồng độ được ưu tiên của dung dịch kháng thể ban đầu thu được trong dung môi, tốt hơn là, nước hoặc hỗn hợp nước-rượu etylic, nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 đến khoảng 5,0 mg/ml.

Quy trình được ưu tiên để điều chế mỗi thành phần là sử dụng hỗn hợp của ba dung dịch rượu-nước của dung dịch nền sơ cấp của các kháng thể được pha loãng 100^{12} , 100^{30} và 100^{200} lần, một cách tương ứng, tương đương với các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn theo phần trăm C12, C30 và C200. Để điều chế dạng liều lượng rắn, chất mang rắn được xử lý bằng dung dịch mong muốn thu được thông qua quy trình vi lượng đồng căn. Để thu được dạng liều lượng đơn vị rắn của hỗn hợp theo sáng chế, khối lượng chất mang được tẩm với mỗi trong số các dung dịch pha loãng. Cả hai loại tẩm đều thích hợp để điều chế dạng liều lượng hỗn hợp mong muốn.

Theo phương án được ưu tiên, nguyên liệu khởi đầu để điều chế dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực mà bao gồm hỗn hợp theo sáng chế là các kháng thể đa dòng, được làm tăng ở động vật kháng kháng nguyên tương ứng, tức là, mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người hoặc thụ thể insulin ở người và NO-syntaza nội mô. Để thu được dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của các kháng thể đa dòng kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người, kháng nguyên mong muốn có thể được tiêm dưới dạng chất sinh miễn dịch vào động vật thí nghiệm, tốt hơn là thỏ. Peptit được đặc biệt quan tâm có thể bao gồm ít nhất khoảng 3 axit amin, thường là ít nhất khoảng 10 trên một trong hai phía

của trình tự, tốt hơn nếu có ít nhất 3 axit amin ở phía đầu tận C. Các trình tự sau của thụ thể insulin ở người cụ thể được bao gồm để làm kháng nguyên thích hợp:

Cấu trúc tiểu đơn vị alpha nguyên vẹn của thụ thể insulin ở người:

SEQ ID NO: 1

													His	Leu	Tyr	
														28		30
Pro	Gly	Glu	Val	Cys	Pro	Gly	Met	Asp	Ile	Arg	Asn	Asn	Leu	Thr		
31				35					40							45
Arg	Leu	His	Glu	Leu	Glu	Asn	Cys	Ser	Val	Ile	Glu	Gly	His	Leu		
46				50					55							60
Gln	Ile	Leu	Leu	Met	Phe	Lys	Thr	Arg	Pro	Glu	Asp	Phe	Arg	Asp		
61				65					70							75
Leu	Ser	Phe	Pro	Lys	Leu	Ile	Met	Ile	Thr	Asp	Tyr	Leu	Leu	Leu		
76				80					85							90
Phe	Arg	Val	Tyr	Gly	Leu	Glu	Ser	Leu	Lys	Asp	Leu	Phe	Pro	Asn		
91				95					100							105
Leu	Thr	Val	Ile	Arg	Gly	Ser	Arg	Leu	Phe	Phe	Asn	Tyr	Ala	Leu		
106				110					115							120
Val	Ile	Phe	Glu	Met	Val	His	Leu	Lys	Glu	Leu	Gly	Leu	Tyr	Asn		
121				125					130							135
Leu	Met	Asn	Ile	Thr	Arg	Gly	Ser	Val	Arg	Ile	Glu	Lys	Asn	Asn		
136				140					145							150
Glu	Leu	Cys	Tyr	Leu	Ala	Thr	Ile	Asp	Trp	Ser	Arg	Ile	Leu	Asp		
151				155					160							165
Ser	Val	Glu	Asp	Asn	Tyr	Ile	Val	Leu	Asn	Lys	Asp	Asp	Asn	Glu		
166				170					175							180
Glu	Cys	Gly	Asp	Ile	Cys	Pro	Gly	Thr	Ala	Lys	Gly	Lys	Thr	Asn		
181				185					190							195
Cys	Pro	Ala	Thr	Val	Ile	Asn	Gly	Gln	Phe	Val	Glu	Arg	Cys	Trp		
196				200					205							210
Thr	His	Ser	His	Cys	Gln	Lys	Val	Cys	Pro	Thr	Ile	Cys	Lys	Ser		
211				215					220							225
His	Gly	Cys	Thr	Ala	Glu	Gly	Leu	Cys	Cys	His	Ser	Glu	Cys	Leu		
226				230					235							240
Gly	Asn	Cys	Ser	Gln	Pro	Asp	Asp	Pro	Thr	Lys	Cys	Val	Ala	Cys		
241				245					250							255

Arg	Asn	Phe	Tyr	Leu	Asp	Gly	Arg	Cys	Val	Glu	Thr	Cys	Pro	Pro
256				260					265					270
Pro	Tyr	Tyr	His	Phe	Gln	Asp	Trp	Arg	Cys	Val	Asn	Phe	Ser	Phe
271				275					280					285
Cys	Gln	Asp	Leu	His	His	Lys	Cys	Lys	Asn	Ser	Arg	Arg	Gln	Gly
286				290					295					300
Cys	His	Gln	Tyr	Val	Ile	His	Asn	Asn	Lys	Cys	Ile	Pro	Glu	Cys
301				305					310					315
Pro	Ser	Gly	Tyr	Thr	Met	Asn	Ser	Ser	Asn	Leu	Leu	Cys	Thr	Pro
316				320					325					330
Cys	Leu	Gly	Pro	Cys	Pro	Lys	Val	Cys	His	Leu	Leu	Glu	Gly	Glu
331				335					340					345
Lys	Thr	Ile	Asp	Ser	Val	Thr	Ser	Ala	Gln	Glu	Leu	Arg	Gly	Cys
346				350					355					360
Thr	Val	Ile	Asn	Gly	Ser	Leu	Ile	Ile	Asn	Ile	Arg	Gly	Gly	Asn
361				365					370					375
Asn	Leu	Ala	Ala	Glu	Leu	Glu	Ala	Asn	Leu	Gly	Leu	Ile	Glu	Glu
376				380					385					390
Ile	Ser	Gly	Tyr	Leu	Lys	Ile	Arg	Arg	Ser	Tyr	Ala	Leu	Val	Ser
391				395					400					405
Leu	Ser	Phe	Phe	Arg	Lys	Leu	Arg	Leu	Ile	Arg	Gly	Glu	Thr	Leu
406				410					415					420
Glu	Ile	Gly	Asn	Tyr	Ser	Phe	Tyr	Ala	Leu	Asp	Asn	Gln	Asn	Leu
421				425					430					435
Arg	Gln	Leu	Trp	Asp	Trp	Ser	Lys	His	Asn	Leu	Thr	Ile	Thr	Gln
436				440					445					450
Gly	Lys	Leu	Phe	Phe	His	Tyr	Asn	Pro	Lys	Leu	Cys	Leu	Ser	Glu
451				455					460					465
Ile	His	Lys	Met	Glu	Glu	Val	Ser	Gly	Thr	Lys	Gly	Arg	Gln	Glu
466				470					475					480
Arg	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Lys	Thr	Asn	Gly	Asp	Gln	Ala	Ser	Cys
481				485					490					495
Glu	Asn	Glu	Leu	Leu	Lys	Phe	Ser	Tyr	Ile	Arg	Thr	Ser	Phe	Asp
496				500					505					510
Lys	Ile	Leu	Leu	Arg	Trp	Glu	Pro	Tyr	Trp	Pro	Pro	Asp	Phe	Arg
511				515					510					525
Asp	Leu	Leu	Gly	Phe	Met	Leu	Phe	Tyr	Lys	Glu	Ala	Pro	Tyr	Gln

526	530	535	540
Asn Val Thr Glu Phe Asp Gly Gln Asp	Ala Cys Gly Ser Asn Ser		
541	545	550	555
Trp Thr Val Val Asp Ile Asp Pro Pro	Leu Arg Ser Asn Asp Pro		
556	560	565	570
Lys Ser Gln Asn His Pro Gly Trp Leu	Met Arg Gly Leu Lys Pro		
571	575	580	585
Trp Thr Gln Tyr Ala Ile Phe Val Lys	Thr Leu Val Thr Phe Ser		
586	590	595	600
Asp Glu Arg Arg Thr Tyr Gly Ala Lys	Ser Asp Ile Ile Tyr Val		
601	605	610	615
Gln Thr Asp Ala Thr Asn Pro Ser Val	Pro Leu Asp Pro Ile Ser		
616	620	625	630
Val Ser Asn Ser Ser Ser Gln Ile Ile	Leu Lys Trp Lys Pro Pro		
631	635	640	645
Ser Asp Pro Asn Gly Asn Ile Thr His	Tyr Leu Val Phe Trp Glu		
646	650	655	660
Arg Gln Ala Glu Asp Ser Glu Leu Phe	Glu Leu Asp Tyr Cys Leu		
661	665	670	675
Lys Gly Leu Lys Leu Pro Ser Arg Thr	Trp Ser Pro Pro Phe Glu		
676	680	685	690
Ser Glu Asp Ser Gln Lys His Asn Gln	Ser Glu Tyr Glu Asp Ser		
691	695	700	705
Ala Gly Glu Cys Cys Ser Cys Pro Lys	Thr Asp Ser Gln Ile Leu		
706	710	715	720
Lys Glu Leu Glu Glu Ser Ser Phe Arg	Lys Thr Phe Glu Asp Tyr		
721	725	730	735
Leu His Asn Val Val Phe Val Pro Arg	Lys Thr Ser Ser Gly Thr		
736	740	745	750
Gly Ala Glu Asp Pro Arg Pro Ser Arg	Lys Arg Arg		
751	755	760	762

Các mảnh của cấu trúc tiểu đơn vị alpha của thụ thể insulin ở người:

SEQ ID NO: 2

Leu Gly Leu Tyr Asn
131 135

Leu Met Asn Ile Thr Arg Gly Ser Val

136

140

144

SEQ ID NO: 3

Lys Gly Lys Thr Asn

191

195

Cys Pro Ala Thr Val Ile Asn Gly

196

200

203

SEQ ID NO: 4

Trp Ser Lys His Asn Leu Thr Ile Thr Gln

441

445

450

Gly Lys Leu

451

453

SEQ ID NO: 5

Asn Val Thr Glu Phe Asp Gly Gln Asp Ala Cys Gly Ser Asn Ser

541

545

550

555

Trp Thr Val Val Asp

556

560

SEQ ID NO: 6

Asp Ile Ile Tyr Val

611

615

Gln Thr Asp Ala Thr

616

620

SEQ ID NO: 7

Tyr Glu Asp Ser

702

705

Ala Gly Glu Cys Cys Ser Cys Pro Lys Thr Asp Ser Gln Ile

706

710

715

719

Cấu trúc tiểu đơn vị beta nguyên vẹn của thụ thể insulin ở người:

SEQ ID NO: 8

Ser Leu Gly

763

765

Asp Val Gly Asn Val Thr Val Ala Val Pro Thr Val Ala Ala Phe			
766	770	775	780
Pro Asn Thr Ser Ser Thr Ser Val Pro Thr Ser Pro Glu Glu His			
781	785	790	795
Arg Pro Phe Glu Lys Val Val Asn Lys Glu Ser Leu Val Ile Ser			
796	800	805	810
Gly Leu Arg His Phe Thr Gly Tyr Arg Ile Glu Leu Gln Ala Cys			
811	815	820	825
Asn Gln Asp Thr Pro Glu Glu Arg Cys Ser Val Ala Ala Tyr Val			
826	830	835	840
Ser Ala Arg Thr Met Pro Glu Ala Lys Ala Asp Asp Ile Val Gly			
841	845	850	855
Pro Val Thr His Glu Ile Phe Glu Asn Asn Val Val His Leu Met			
856	860	865	870
Trp Gln Glu Pro Lys Glu Pro Asn Gly Leu Ile Val Leu Tyr Glu			
871	875	880	885
Val Ser Tyr Arg Arg Tyr Gly Asp Glu Glu Leu His Leu Cys Val			
886	890	895	900
Ser Arg Lys His Phe Ala Leu Glu Arg Gly Cys Arg Leu Arg Gly			
901	905	910	915
Leu Ser Pro Gly Asn Tyr Ser Val Arg Ile Arg Ala Thr Ser Leu			
916	920	925	930
Ala Gly Asn Gly Ser Trp Thr Glu Pro Thr Tyr Phe Tyr Val Thr			
931	935	940	945
Asp Tyr Leu Asp Val Pro Ser Asn Ile Ala Lys Ile Ile Ile Gly			
946	950	955	960
Pro Leu Ile Phe Val Phe Leu Phe Ser Val Val Ile Gly Ser Ile			
961	965	970	975
Tyr Leu Phe Leu Arg Lys Arg Gln Pro Asp Gly Pro Leu Gly Pro			
976	980	985	990
Leu Tyr Ala Ser Ser Asn Pro Glu Tyr Leu Ser Ala Ser Asp Val			
991	995	1000	1005
Phe Pro Cys Ser Val Tyr Val Pro Asp Glu Trp Glu Val Ser Arg			
1006	1010	1015	1020
Glu Lys Ile Thr Leu Leu Arg Glu Leu Gly Gln Gly Ser Phe Gly			
1021	1025	1030	1035
Met Val Tyr Glu Gly Asn Ala Arg Asp Ile Ile Lys Gly Glu Ala			

1036	1140	1145	1050
Glu Thr Arg Val Ala Val Lys Thr Val Asn Glu Ser Ala Ser Leu			
1051	1155	1160	1065
Arg Glu Arg Ile Glu Phe Leu Asn Glu Ala Ser Val Met Lys Gly			
1066	1170	1175	1080
Phe Thr Cys His His Val Val Arg Leu Leu Gly Val Val Ser Lys			
1081	1185	1190	1095
Gly Gln Pro Thr Leu Val Val Met Glu Leu Met Ala His Gly Asp			
1096	1100	1105	1110
Leu Lys Ser Tyr Leu Arg Ser Leu Arg Pro Glu Ala Glu Asn Asn			
1111	1115	1120	1125
Pro Gly Arg Pro Pro Pro Thr Leu Gln Glu Met Ile Gln Met Ala			
1126	1130	1135	1140
Ala Glu Ile Ala Asp Gly Met Ala Tyr Leu Asn Ala Lys Lys Phe			
1141	1145	1150	1155
Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Val Ala His Asp			
1156	1160	1165	1170
Phe Thr Val Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Thr Arg Asp Ile Tyr			
1171	1175	1180	1185
Glu Thr Asp Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Lys Gly Leu Leu Pro Val			
1186	1190	1195	1200
Arg Trp Met Ala Pro Glu Ser Leu Lys Asp Gly Val Phe Thr Thr			
1201	1205	1210	1215
Ser Ser Asp Met Trp Ser Phe Gly Val Val Leu Trp Glu Ile Thr			
1216	1220	1225	1230
Ser Leu Ala Glu Gln Pro Tyr Gln Gly Leu Ser Asn Glu Gln Val			
1231	1235	1240	1245
Leu Lys Phe Val Met Asp Gly Gly Tyr Leu Asp Gln Pro Asp Asn			
1246	1250	1255	1260
Cys Pro Glu Arg Val Thr Asp Leu Met Arg Met Cys Trp Gln Phe			
1261	1265	1270	1275
Asn Pro Lys Met Arg Pro Thr Phe Leu Glu Ile Val Asn Leu Leu			
1276	1280	1285	1290
Lys Asp Asp Leu His Pro Ser Phe Pro Glu Val Ser Phe Phe His			
1291	1295	1300	1305
Ser Glu Glu Asn Lys Ala Pro Glu Ser Glu Glu Leu Glu Met Glu			
1306	1310	1315	1320

Phe Glu Asp Met Glu Asn Val Pro Leu Asp Arg Ser Ser His Cys
 1321 1325 1330 1335
 Gln Arg Glu Glu Ala Gly Gly Arg Asp Gly Gly Ser Ser Leu Gly
 1336 1340 1345 1350
 Phe Lys Arg Ser Tyr Glu Glu His Ile Pro Tyr Thr His Met Asn
 1351 1355 1360 1365
 Gly Gly Lys Lys Asn Gly Arg Ile Leu Thr Leu Pro Arg Ser Asn
 1366 1370 1375 1380
 Pro Ser
 13811382

Các mảnh của mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người:

SEQ ID NO: 9

Lys Lys Asn Gly Arg Ile Leu Thr Leu Pro
 1368 1370 1375 1377

SEQ ID NO: 10

 Arg Ile Leu Thr Leu Pro Arg Ser Asn
 1372 1375 1380
 Pro Ser
 13811382

SEQ ID NO: 11

Lys Asn Gly Arg Ile Leu Thr
 13691370 1375

SEQ ID NO: 12

Gly Gly Lys Lys Asn Gly Arg Ile Leu Thr Leu Pro Arg Ser Asn
 1366 1370 1375 1380
 Pro Ser
 13811382

SEQ ID NO: 13

Asn
 1365

Gly Gly Lys Lys Asn Gly Arg Ile Leu Thr Leu Pro Arg Ser Asn
 1366 1370 1375 1380
 Pro Ser
 13811382

Việc sử dụng thụ thể insulin ở người làm kháng nguyên cũng được dự định.
 Trình tự thích hợp đối với kháng nguyên này là như sau:

SEQ ID NO: 14

Met Ala Thr Gly Gly Arg Arg Gly Ala Ala Ala Ala Pro Leu Leu
 1 5 10 15
 Val Ala Val Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ala Ala Gly His Leu Tyr
 16 20 25 30
 Pro Gly Glu Val Cys Pro Gly Met Asp Ile Arg Asn Asn Leu Thr
 31 35 40 45
 Arg Leu His Glu Leu Glu Asn Cys Ser Val Ile Glu Gly His Leu
 46 50 55 60
 Gln Ile Leu Leu Met Phe Lys Thr Arg Pro Glu Asp Phe Arg Asp
 61 65 70 75
 Leu Ser Phe Pro Lys Leu Ile Met Ile Thr Asp Tyr Leu Leu Leu
 76 80 85 90
 Phe Arg Val Tyr Gly Leu Glu Ser Leu Lys Asp Leu Phe Pro Asn
 91 95 100 105
 Leu Thr Val Ile Arg Gly Ser Arg Leu Phe Phe Asn Tyr Ala Leu
 106 110 115 120
 Val Ile Phe Glu Met Val His Leu Lys Glu Leu Gly Leu Tyr Asn
 121 125 130 135
 Leu Met Asn Ile Thr Arg Gly Ser Val Arg Ile Glu Lys Asn Asn
 136 140 145 150
 Glu Leu Cys Tyr Leu Ala Thr Ile Asp Trp Ser Arg Ile Leu Asp
 151 155 160 165
 Ser Val Glu Asp Asn Tyr Ile Val Leu Asn Lys Asp Asp Asn Glu
 166 170 175 180
 Glu Cys Gly Asp Ile Cys Pro Gly Thr Ala Lys Gly Lys Thr Asn
 181 185 190 195
 Cys Pro Ala Thr Val Ile Asn Gly Gln Phe Val Glu Arg Cys Trp

196	200	205	210
Thr His Ser His Cys Gln Lys Val Cys Pro Thr Ile Cys Lys Ser			
211	215	220	225
His Gly Cys Thr Ala Glu Gly Leu Cys Cys His Ser Glu Cys Leu			
226	230	235	240
Gly Asn Cys Ser Gln Pro Asp Asp Pro Thr Lys Cys Val Ala Cys			
241	245	250	255
Arg Asn Phe Tyr Leu Asp Gly Arg Cys Val Glu Thr Cys Pro Pro			
256	260	265	270
Pro Tyr Tyr His Phe Gln Asp Trp Arg Cys Val Asn Phe Ser Phe			
271	275	280	285
Cys Gln Asp Leu His His Lys Cys Lys Asn Ser Arg Arg Gln Gly			
286	290	295	300
Cys His Gln Tyr Val Ile His Asn Asn Lys Cys Ile Pro Glu Cys			
301	305	310	315
Pro Ser Gly Tyr Thr Met Asn Ser Ser Asn Leu Leu Cys Thr Pro			
316	320	325	330
Cys Leu Gly Pro Cys Pro Lys Val Cys His Leu Leu Glu Gly Glu			
331	335	340	345
Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr Ser Ala Gln Glu Leu Arg Gly Cys			
346	350	355	360
Thr Val Ile Asn Gly Ser Leu Ile Ile Asn Ile Arg Gly Gly Asn			
361	365	370	375
Asn Leu Ala Ala Glu Leu Glu Ala Asn Leu Gly Leu Ile Glu Glu			
376	380	385	390
Ile Ser Gly Tyr Leu Lys Ile Arg Arg Ser Tyr Ala Leu Val Ser			
391	395	400	405
Leu Ser Phe Phe Arg Lys Leu Arg Leu Ile Arg Gly Glu Thr Leu			
406	410	415	420
Glu Ile Gly Asn Tyr Ser Phe Tyr Ala Leu Asp Asn Gln Asn Leu			
421	425	430	435
Arg Gln Leu Trp Asp Trp Ser Lys His Asn Leu Thr Ile Thr Gln			
436	440	445	450
Gly Lys Leu Phe Phe His Tyr Asn Pro Lys Leu Cys Leu Ser Glu			
451	455	460	465

Ile	His	Lys	Met	Glu	Glu	Val	Ser	Gly	Thr	Lys	Gly	Arg	Gln	Glu
466				470					475					480
Arg	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Lys	Thr	Asn	Gly	Asp	Gln	Ala	Ser	Cys
481				485					490					495
Glu	Asn	Glu	Leu	Leu	Lys	Phe	Ser	Tyr	Ile	Arg	Thr	Ser	Phe	Asp
496				500					505					510
Lys	Ile	Leu	Leu	Arg	Trp	Glu	Pro	Tyr	Trp	Pro	Pro	Asp	Phe	Arg
511				515					510					525
Asp	Leu	Leu	Gly	Phe	Met	Leu	Phe	Tyr	Lys	Glu	Ala	Pro	Tyr	Gln
526				530					535					540
Asn	Val	Thr	Glu	Phe	Asp	Gly	Gln	Asp	Ala	Cys	Gly	Ser	Asn	Ser
541				545					550					555
Trp	Thr	Val	Val	Asp	Ile	Asp	Pro	Pro	Leu	Arg	Ser	Asn	Asp	Pro
556				560					565					570
Lys	Ser	Gln	Asn	His	Pro	Gly	Trp	Leu	Met	Arg	Gly	Leu	Lys	Pro
571				575					580					585
Trp	Thr	Gln	Tyr	Ala	Ile	Phe	Val	Lys	Thr	Leu	Val	Thr	Phe	Ser
586				590					595					600
Asp	Glu	Arg	Arg	Thr	Tyr	Gly	Ala	Lys	Ser	Asp	Ile	Ile	Tyr	Val
601				605					610					615
Gln	Thr	Asp	Ala	Thr	Asn	Pro	Ser	Val	Pro	Leu	Asp	Pro	Ile	Ser
616				620					625					630
Val	Ser	Asn	Ser	Ser	Ser	Gln	Ile	Ile	Leu	Lys	Trp	Lys	Pro	Pro
631				635					640					645
Ser	Asp	Pro	Asn	Gly	Asn	Ile	Thr	His	Tyr	Leu	Val	Phe	Trp	Glu
646				650					655					660
Arg	Gln	Ala	Glu	Asp	Ser	Glu	Leu	Phe	Glu	Leu	Asp	Tyr	Cys	Leu
661				665					670					675
Lys	Gly	Leu	Lys	Leu	Pro	Ser	Arg	Thr	Trp	Ser	Pro	Pro	Phe	Glu
676				680					685					690
Ser	Glu	Asp	Ser	Gln	Lys	His	Asn	Gln	Ser	Glu	Tyr	Glu	Asp	Ser
691				695					700					705
Ala	Gly	Glu	Cys	Cys	Ser	Cys	Pro	Lys	Thr	Asp	Ser	Gln	Ile	Leu
706				710					715					720
Lys	Glu	Leu	Glu	Glu	Ser	Ser	Phe	Arg	Lys	Thr	Phe	Glu	Asp	Tyr

721	725	730	735
Leu His Asn Val	Val Phe Val Pro Arg	Lys Thr Ser Ser Gly Thr	
736	740	745	750
Gly Ala Glu Asp	Pro Arg Pro Ser Arg	Lys Arg Arg Ser Leu Gly	
751	755	760	765
Asp Val Gly Asn	Val Thr Val Ala Val	Pro Thr Val Ala Ala Phe	
766	770	775	780
Pro Asn Thr Ser	Ser Thr Ser Val Pro	Thr Ser Pro Glu Glu His	
781	785	790	795
Arg Pro Phe Glu	Lys Val Val Asn Lys	Glu Ser Leu Val Ile Ser	
796	800	805	810
Gly Leu Arg His	Phe Thr Gly Tyr Arg	Ile Glu Leu Gln Ala Cys	
811	815	820	825
Asn Gln Asp Thr	Pro Glu Glu Arg Cys	Ser Val Ala Ala Tyr Val	
826	830	835	840
Ser Ala Arg Thr	Met Pro Glu Ala Lys	Ala Asp Asp Ile Val Gly	
841	845	850	855
Pro Val Thr His	Glu Ile Phe Glu Asn	Asn Val Val His Leu Met	
856	860	865	870
Trp Gln Glu Pro	Lys Glu Pro Asn Gly	Leu Ile Val Leu Tyr Glu	
871	875	880	885
Val Ser Tyr Arg	Arg Tyr Gly Asp Glu	Glu Leu His Leu Cys Val	
886	890	895	900
Ser Arg Lys His	Phe Ala Leu Glu Arg	Gly Cys Arg Leu Arg Gly	
901	905	910	915
Leu Ser Pro Gly	Asn Tyr Ser Val Arg	Ile Arg Ala Thr Ser Leu	
916	920	925	930
Ala Gly Asn Gly	Ser Trp Thr Glu Pro	Thr Tyr Phe Tyr Val Thr	
931	935	940	945
Asp Tyr Leu Asp	Val Pro Ser Asn Ile	Ala Lys Ile Ile Ile Gly	
946	950	955	960
Pro Leu Ile Phe	Val Phe Leu Phe Ser	Val Val Ile Gly Ser Ile	
961	965	970	975
Tyr Leu Phe Leu	Arg Lys Arg Gln Pro	Asp Gly Pro Leu Gly Pro	
976	980	985	990

```

Leu Tyr Ala Ser Ser Asn Pro Glu Tyr Leu Ser Ala Ser Asp Val
991                995                1000                1005
Phe Pro Cys Ser Val Tyr Val Pro Asp Glu Trp Glu Val Ser Arg
1006                1010                1015                1020
Glu Lys Ile Thr Leu Leu Arg Glu Leu Gly Gln Gly Ser Phe Gly
1021                1025                1030                1035
Met Val Tyr Glu Gly Asn Ala Arg Asp Ile Ile Lys Gly Glu Ala
1036                1140                1145                1050
Glu Thr Arg Val Ala Val Lys Thr Val Asn Glu Ser Ala Ser Leu
1051                1155                1160                1065
Arg Glu Arg Ile Glu Phe Leu Asn Glu Ala Ser Val Met Lys Gly
1066                1170                1175                1080
Phe Thr Cys His His Val Val Arg Leu Leu Gly Val Val Ser Lys
1081                1185                1190                1095
Gly Gln Pro Thr Leu Val Val Met Glu Leu Met Ala His Gly Asp
1096                1100                1105                1110
Leu Lys Ser Tyr Leu Arg Ser Leu Arg Pro Glu Ala Glu Asn Asn
1111                1115                1120                1125
Pro Gly Arg Pro Pro Pro Thr Leu Gln Glu Met Ile Gln Met Ala
1126                1130                1135                1140
Ala Glu Ile Ala Asp Gly Met Ala Tyr Leu Asn Ala Lys Lys Phe
1141                1145                1150                1155
Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Val Ala His Asp
1156                1160                1165                1170
Phe Thr Val Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Thr Arg Asp Ile Tyr
1171                1175                1180                1185
Glu Thr Asp Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Lys Gly Leu Leu Pro Val
1186                1190                1195                1200
Arg Trp Met Ala Pro Glu Ser Leu Lys Asp Gly Val Phe Thr Thr
1201                1205                1210                1215
Ser Ser Asp Met Trp Ser Phe Gly Val Val Leu Trp Glu Ile Thr
1216                1220                1225                1230
Ser Leu Ala Glu Gln Pro Tyr Gln Gly Leu Ser Asn Glu Gln Val
1231                1235                1240                1245
Leu Lys Phe Val Met Asp Gly Gly Tyr Leu Asp Gln Pro Asp Asn

```

1246	1250	1255	1260
Cys Pro Glu Arg Val Thr Asp Leu Met Arg Met Cys Trp Gln Phe			
1261	1265	1270	1275
Asn Pro Lys Met Arg Pro Thr Phe Leu Glu Ile Val Asn Leu Leu			
1276	1280	1285	1290
Lys Asp Asp Leu His Pro Ser Phe Pro Glu Val Ser Phe Phe His			
1291	1295	1300	1305
Ser Glu Glu Asn Lys Ala Pro Glu Ser Glu Glu Leu Glu Met Glu			
1306	1310	1315	1320
Phe Glu Asp Met Glu Asn Val Pro Leu Asp Arg Ser Ser His Cys			
1321	1325	1330	1335
Gln Arg Glu Glu Ala Gly Gly Arg Asp Gly Gly Ser Ser Leu Gly			
1336	1340	1345	1350
Phe Lys Arg Ser Tyr Glu Glu His Ile Pro Tyr Thr His Met Asn			
1351	1355	1360	1365
Gly Gly Lys Lys Asn Gly Arg Ile Leu Thr Leu Pro Arg Ser Asn			
1366	1370	1375	1380
Pro Ser			
1381	1382		

Quy trình nêu làm ví dụ để điều chế các kháng thể đa dòng khởi đầu kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người có thể được mô tả như sau. Vào 7-9 ngày trước khi lấy mẫu máu, các con thỏ được tiến hành 1-3 lần tiêm tĩnh mạch kháng nguyên mong muốn để làm tăng mức kháng thể đa dòng trong dòng máu thỏ. Trong quá trình gây miễn dịch, các mẫu máu được lấy để kiểm tra mức kháng thể. Thông thường, mức tối đa của phản ứng miễn dịch của kháng nguyên hòa tan đạt được trong 40 đến 60 ngày sau lần tiêm kháng nguyên đầu tiên. Khi kết thúc chu kỳ miễn dịch đầu tiên, thỏ có khoảng thời gian phục hồi là 30 ngày, sau đó việc gây miễn dịch lại được tiến hành với 1-3 lần tiêm tĩnh mạch khác.

Để thu được kháng huyết thanh chứa các kháng thể mong muốn, máu của thỏ đã được gây miễn dịch được thu gom từ các con thỏ và được đặt trong ống ly tâm dung tích 50ml. Các khối sản phẩm được tạo thành trên thành ống được lấy ra bằng bay gỗ, và que được đặt vào khối ở tâm ống. Sau đó, máu được đặt trong tủ lạnh trong một đêm ở nhiệt độ khoảng 40°C. Vào ngày hôm sau, khối trên bay gỗ được lấy ra, và chất

lỏng còn lại được ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 13.000 vòng quay. Dịch lỏng nổi bề mặt là kháng huyết thanh đích. Kháng huyết thanh thu được thường có màu vàng. 20% NaN_3 (nồng độ khối lượng) được bổ sung trong kháng huyết thanh đến nồng độ cuối cùng bằng 0,02% và được bảo quản trước khi sử dụng ở trạng thái được làm đông lạnh ở nhiệt độ -20°C (hoặc không có NaN_3 ở nhiệt độ -70°C). Để tách riêng các kháng thể đích kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người khỏi kháng huyết thanh, trình tự hấp thụ pha rắn sau đây là thích hợp:

10 ml kháng huyết thanh của thỏ được pha loãng hai lần với NaCl 0,15 M, sau đó 6,26g Na_2SO_4 được thêm vào, được trộn và được ủ trong 12-16 giờ ở nhiệt độ 4°C . Phần cặn được lấy ra bằng cách ly tâm, được pha loãng trong 10ml dung dịch đệm phosphat và được thẩm tách đối với cùng chất đệm trong một đêm ở nhiệt độ môi trường. Sau khi phần cặn được lấy ra, dung dịch được cấp vào cột DEAE-xenluloza đã được cân bằng bởi dung dịch đệm phosphat. Phân đoạn kháng thể được xác định bằng cách đo mật độ quang của nước giải hấp ở 280 Nm.

Các kháng thể thô đã được phân lập được tinh chế bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký afin bằng cách liên kết các kháng thể thu được với mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người được đặt trên nền không tan của môi trường sắc ký, với sự rửa giải tiếp theo bởi dung dịch nước muối đã được cô.

Dung dịch chất đệm thu được được sử dụng làm dung dịch ban đầu cho quy trình pha loãng theo phép vi lượng đồng căn được sử dụng để điều chế dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể. Nồng độ được ưu tiên của dung dịch nền ban đầu của kháng thể thỏ đa dòng đã được tinh chế kháng nguyên kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người nằm trong khoảng từ 0,5 đến 5,0 mg/ml, tốt hơn là, từ 2,0 đến 3,0 mg/ml.

Các kháng thể đa dòng kháng NO-syntaza nội mô thu được bằng phương pháp tương tự sử dụng tá được. Để thu được các kháng thể đa dòng kháng NO-syntaza nội mô, có thể sử dụng phân tử nguyên vẹn của NO-syntaza nội mô của bò có trình tự được mô tả dưới đây làm chất sinh miễn dịch (kháng nguyên):

SEQ ID NO: 15

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

Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Cys	Gly	Lys	Gln	Gly
16				20					25					30
Pro	Ala	Ser	Pro	Ala	Pro	Glu	Pro	Ser	Arg	Ala	Pro	Ala	Pro	Ala
31				35					40					45
Thr	Pro	His	Ala	Pro	Asp	His	Ser	Pro	Ala	Pro	Asn	Ser	Pro	Thr
46				50					55					60
Leu	Thr	Arg	Pro	Pro	Glu	Gly	Pro	Lys	Phe	Pro	Arg	Val	Lys	Asn
61				65					70					75
Trp	Glu	Leu	GLys	er	Ile	Thr	Tyr	Asp	Thr	Leu	Cys	Ala	Gln	Ser
76				80					85					90
Gln	Gln	Asp	Gly	Pro	Cys	Thr	Pro	Arg	Cys	Cys	Leu	GLys	er	Leu
91				95					100					105
Val	Leu	Pro	Arg	Lys	Leu	Gln	Thr	Arg	Pro	Ser	Pro	Gly	Pro	Pro
106				110					115					120
Pro	Ala	Glu	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Ala	Arg	Asp	Phe	Ile	Asn	Gln
121				125					130					135
Tyr	Tyr	Ser	Ser	Ile	Lys	Arg	Ser	GLys	er	Gln	Ala	His	Glu	Glu
136				140					145					150
Arg	Leu	Gln	Glu	Val	Glu	Ala	Glu	Val	Ala	Ser	Thr	Gly	Thr	Tyr
151				155					160					165
His	Leu	Arg	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Phe	Gly	Ala	Lys	Gln	Ala	Trp
166				170					175					180
Arg	Asn	Ala	Pro	Arg	Cys	Val	Gly	Arg	Ile	Gln	Trp	Gly	Lys	Leu
181				185					190					195
Gln	Val	Phe	Asp	Ala	Arg	Asp	Cys	Ser	Ser	Ala	Gln	Glu	Met	Phe
196				200					205					210
Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	His	Ile	Lys	Tyr	Ala	Thr	Asn	Arg	Gly	Asn
211				215					220					225
Leu	Arg	Ser	Ala	Ile	Thr	Val	Phe	Pro	Gln	Arg	Ala	Pro	Gly	Arg
226				230					235					240
Gly	Asp	Phe	Arg	Ile	Trp	Asn	Ser	Gln	Leu	Val	Arg	Tyr	Ala	Gly
241				245					250					255
Tyr	Arg	Gln	Gln	Asp	GLys	er	Val	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Asn	Val
256				260					265					270
Glu	Ile	Thr	Glu	Leu	Cys	Ile	Gln	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Gly	Asn
271				275					280					285
Gly	Arg	Phe	Asp	Val	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Asp	Glu

286	290	295	300
Ala Pro Glu Leu	Phe Val Leu Pro Pro	Glu Leu Val Leu Glu Val	
301	305	310	315
Pro Leu Glu His	Pro Thr Leu Glu Trp	Phe Ala Ala Leu Gly Leu	
316	320	325	330
Arg Trp Tyr Ala	Leu Pro Ala Val Ser	Asn Met Leu Leu Glu Ile	
331	335	340	345
Gly Gly Leu Glu	Phe Ser Ala Ala Pro	Phe Ser Gly Trp Tyr Met	
346	350	355	360
Ser Thr Glu Ile	Gly Thr Arg Asn Leu	Cys Asp Pro His Arg Tyr	
361	365	370	375
Asn Ile Leu Glu	Asp Val Ala Val Cys	Met Asp Leu Asp Thr Arg	
376	380	385	390
Thr Thr Ser Ser	Leu Trp Lys Asp Lys	Ala Ala Val Glu Ile Asn	
391	395	400	405
Leu Ala Val Leu	His Ser Phe Gln Leu	Ala Lys Val Thr Ile Val	
406	410	415	420
Asp His His Ala	Ala Thr Val Ser Phe	Met Lys His Leu Asp Asn	
421	425	430	435
Glu Gln Lys Ala	Arg Gly Gly Cys Pro	Ala Asp Trp Ala Trp Ile	
436	440	445	450
Val Pro Pro Ile	Ser GLys er Leu Thr	Pro Val Phe His Gln Glu	
451	455	460	465
Met Val Asn Tyr	Ile Leu Ser Pro Ala	Phe Arg Tyr Gln Pro Asp	
466	470	475	480
Pro Trp Lys GLy	Ser Ala Thr Lys Gly	Ala Gly Ile Thr Arg Lys	
481	485	490	495
Lys Thr Phe Lys	Glu Val Ala Asn Ala	Val Lys Ile Ser Ala Ser	
496	500	505	510
Leu Met Gly Thr	Leu Met Ala Lys Arg	Val Lys Ala Thr Ile Leu	
511	515	510	525
Tyr Ala Ser Glu	Thr Gly Arg Ala Gln	Ser Tyr Ala Gln Gln Leu	
526	530	535	540
Gly Arg Leu Phe	Arg Lys Ala Phe Asp	Pro Arg Val Leu Cys Met	
541	545	550	555
Asp Glu Tyr Asp	Val Val Ser Leu Glu	His Glu Ala Leu Val Leu	
556	560	565	570

Val	Val	Thr	Ser	Thr	Phe	Gly	Asn	Gly	Asp	Pro	Pro	Glu	Asn	Gly
571				575					580					585
Glu	Ser	Phe	Ala	Ala	Ala	Leu	Met	Glu	Met	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn
586				590					595					600
Ser	Ser	Pro	Arg	Pro	Glu	Gln	His	Lys	Ser	Tyr	Lys	Ile	Arg	Phe
601				605					610					615
Asn	Ser	Val	Ser	Cys	Ser	Asp	Pro	Leu	Val	Ser	Ser	Trp	Arg	Arg
616				620					625					630
Lys	Arg	Lys	Glu	Ser	Ser	Asn	Thr	Asp	Ser	Ala	Gly	Ala	Leu	Gly
631				635					640					645
Thr	Leu	Arg	Phe	Cys	Val	Phe	Gly	Leu	GLy	Ser	Arg	Ala	Tyr	Pro
646				650					655					660
His	Phe	Cys	Ala	Phe	Ala	Arg	Ala	Val	Asp	Thr	Arg	Leu	Glu	Glu
661				665					670					675
Leu	Gly	Gly	Glu	Arg	Leu	Leu	Gln	Leu	Gly	Gln	Gly	Asp	Glu	Leu
676				680					685					690
Cys	Gly	Gln	Glu	Glu	Ala	Phe	Arg	Gly	Trp	Ala	Lys	Ala	Ala	Phe
691				695					700					705
Gln	Ala	Ser	Cys	Glu	Thr	Phe	Cys	Val	Gly	Glu	Glu	Ala	Lys	Ala
706				710					715					720
Ala	Ala	Gln	Asp	Ile	Phe	Ser	Pro	Lys	Arg	Ser	Trp	Lys	Arg	Gln
721				725					730					735
Arg	Tyr	Arg	Leu	Ser	Thr	Gln	Ala	Glu	Gly	Leu	Gln	Leu	Leu	Pro
736				740					745					750
Gly	Leu	Ile	His	Val	His	Arg	Arg	Lys	Met	Phe	Gln	Ala	Thr	Val
751				755					760					765
Leu	Ser	Val	Glu	Asn	Leu	Gln	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Arg	Ala	Thr
766				770					775					780
Ile	Leu	Val	Arg	Leu	Asp	Thr	Ala	Gly	Gln	Glu	Gly	Leu	Gln	Tyr
781				785					790					795
Gln	Pro	Gly	Asp	His	Ile	Gly	Ile	Cys	Pro	Pro	Asn	Arg	Pro	Gly
796				800					805					810
Leu	Val	Glu	Ala	Leu	Leu	Ser	Arg	Val	Glu	Asp	Pro	Pro	Pro	Pro
811				815					820					825
Thr	Glu	Ser	Val	Ala	Val	Glu	Gln	Leu	Glu	Lys	GLys	er	Pro	Gly
826				830					835					840
Gly	Pro	Pro	Pro	Ser	Trp	Val	Arg	Asp	Pro	Arg	Leu	Pro	Pro	Cys

841	845	850	855
Thr Leu Arg Gln	Ala Leu Thr Phe Phe	Leu Asp Ile Thr	Ser Pro
856	860	865	870
Pro Ser Pro Arg	Leu Leu Arg Leu Leu	Ser Thr Leu Ala	Glu Glu
871	875	880	885
Pro Ser Glu Gln	Gln Glu Leu Glu Thr	Leu Ser Gln Asp	Pro Arg
886	890	895	900
Arg Tyr Glu Glu	Trp Lys Trp Phe Arg	Cys Pro Thr Leu	Leu Glu
901	905	910	915
Val Leu Glu Gln	Phe Pro Ser Val Ala	Leu Pro Ala Pro	Leu Leu
916	920	925	930
Leu Thr Gln Leu	Pro Leu Leu Gln Pro	Arg Tyr Tyr Ser	Val Ser
931	935	940	945
Ser Ala Pro Asn	Ala His Pro Gly Glu	Val His Leu Thr	Val Ala
946	950	955	960
Val Leu Ala Tyr	Arg Thr Gln Asp Gly	Leu Gly Pro Leu	His Tyr
961	965	970	975
Gly Val Cys Ser	Thr Trp Leu Ser Gln	Leu Lys Thr Gly	Asp Pro
976	980	985	990
Val Pro Cys Phe	Ile Arg Gly Ala Pro	Ser Phe Arg Leu	Pro Pro
991	995	1000	1005
Asp Pro Tyr Val	Pro Cys Ile Leu Val	Gly Pro Gly Thr	Gly Ile
1006	1010	1015	1020
Ala Pro Phe Arg	Gly Phe Trp Gln Glu	Arg Leu His Asp	Ile Glu
1021	1025	1030	1035
Ser Lys Gly Leu	Gln Pro Ala Pro Met	Thr Leu Val Phe	Gly Cys
1036	1040	1045	1050
Arg Cys Ser Gln	Leu Asp His Leu Tyr	Arg Asp Glu Val	Gln Asp
1051	1055	1060	1065
Ala Gln Glu Arg	Gly Val Phe Gly Arg	Val Leu Thr Ala	Phe Ser
1066	1070	1075	1080
Arg Glu Pro Asp	Ser Pro Lys Thr Tyr	Val Gln Asp Ile	Leu Arg
1081	1085	1090	1095
Thr Glu Leu Ala	Ala Glu Val His Arg	Val Leu Cys Leu	Glu Arg
1096	1100	1105	1110
Gly His Met Phe	Val Cys Gly Asp Val	Thr Met Ala Thr	Ser Val
1111	1115	1120	1125

```

Leu Gln Thr Val Gln Arg Ile Leu Ala Thr Glu Gly Asp Met Glu
1126          1130          1135          1140
Leu Asp Glu Ala Gly Asp Val Ile Gly Val Leu Arg Asp Gln Gln
1141          1145          1150          1155
Arg Tyr His Glu Asp Ile Phe Gly Leu Thr Leu Arg Thr Gln Glu
1156          1160          1165          1170
Val Thr Ser Arg Ile Arg Thr Gln Ser Phe Ser Leu Gln Glu Arg
1171          1175          1180          1185
His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro
1186          1190          1195          1200
Asp Thr Pro Gly Pro
1201          1205

```

Các kháng thể đa dòng kháng NO syntaza có thể thu được bằng cách sử dụng phân tử nguyên vẹn của NO syntaza ở người có trình tự sau:

SEQ ID NO:16

```

Met Gly Asn Leu Lys Ser Val Ala Gln Glu Pro Gly Pro Pro Cys
 1          5          10          15
Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Cys Gly Lys Gln Gly
16          20          25          30
Pro Ala Thr Pro Ala Pro Glu Pro Ser Arg Ala Pro Ala Ser Leu
31          35          40          45
Leu Pro Pro Ala Pro Glu His Ser Pro Pro Ser Ser Pro Leu Thr
46          50          55          60
Gln Pro Pro Glu Gly Pro Lys Phe Pro Arg Val Lys Asn Trp Glu
61          65          70          75
Val GLys er Ile Thr Tyr Asp Thr Leu Ser Ala Gln Ala Gln Gln
76          80          85          90
Asp Gly Pro Cys Thr Pro Arg Arg Cys Leu GLys er Leu Val Phe
91          95          100          105
Pro Arg Lys Leu Gln Gly Arg Pro Ser Pro Gly Pro Pro Ala Pro
106          110          115          120
Glu Gln Leu Leu Ser Gln Ala Arg Asp Phe Ile Asn Gln Tyr Tyr
121          125          130          135

```

Ser	Ser	Ile	Lys	Arg	Ser	GLys	er	Gln	Ala	His	Glu	Gln	Arg	Leu
136				140					145					150
Gln	Glu	Val	Glu	Ala	Glu	Val	Ala	Ala	Thr	Gly	Thr	Tyr	Gln	Leu
151				155					160					165
Arg	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Phe	Gly	Ala	Lys	Gln	Ala	Trp	Arg	Asn
166				170					175					180
Ala	Pro	Arg	Cys	Val	Gly	Arg	Ile	Gln	Trp	Gly	Lys	Leu	Gln	Val
181				185					190					195
Phe	Asp	Ala	Arg	Asp	Cys	Arg	Ser	Ala	Gln	Glu	Met	Phe	Thr	Tyr
196				200					205					210
Ile	Cys	Asn	His	Ile	Lys	Tyr	Ala	Thr	Asn	Arg	Gly	Asn	Leu	Arg
211				215					220					225
Ser	Ala	Ile	Thr	Val	Phe	Pro	Gln	Arg	Cys	Pro	Gly	Arg	Gly	Asp
226				230					235					240
Phe	Arg	Ile	Trp	Asn	Ser	Gln	Leu	Val	Arg	Tyr	Ala	Gly	Tyr	Arg
241				245					250					255
Gln	Gln	Asp	GLy	Ser	Val	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Asn	Val	Glu	Ile
256				260					265					270
Thr	Glu	Leu	Cys	Ile	Gln	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Gly	Asn	Gly	Arg
271				275					280					285
Phe	Asp	Val	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Asp	Glu	Pro	Pro
286				290					295					300
Glu	Leu	Phe	Leu	Leu	Pro	Pro	Glu	Leu	Val	Leu	Glu	Val	Pro	Leu
301				305					310					315
Glu	His	Pro	Thr	Leu	Glu	Trp	Phe	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu	Arg	Trp
316				320					325					330
Tyr	Ala	Leu	Pro	Ala	Val	Ser	Asn	Met	Leu	Leu	Glu	Ile	Gly	Gly
331				335					340					345
Leu	Glu	Phe	Pro	Ala	Ala	Pro	Phe	Ser	Gly	Trp	Tyr	Met	Ser	Thr
346				350					355					360
Glu	Ile	Gly	Thr	Arg	Asn	Leu	Cys	Asp	Pro	His	Arg	Tyr	Asn	Ile
361				365					370					375
Leu	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Cys	Met	Asp	Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Thr
376				380					385					390

Ser	Ser	Leu	Trp	Lys	Asp	Lys	Ala	Ala	Val	Glu	Ile	Asn	Val	Ala
391				395					400					405
Val	Leu	His	Ser	Tyr	Gln	Leu	Ala	Lys	Val	Thr	Ile	Val	Asp	His
406				410					415					420
His	Ala	Ala	Thr	Ala	Ser	Phe	Met	Lys	His	Leu	Glu	Asn	Glu	Gln
421				425					430					435
Lys	Ala	Arg	Gly	Gly	Cys	Pro	Ala	Asp	Trp	Ala	Trp	Ile	Val	Pro
436				440					445					450
Pro	Ile	Ser	GLys	er	Leu	Thr	Pro	Val	Phe	His	Gln	Glu	Met	Val
451				455					460					465
Asn	Tyr	Phe	Leu	Ser	Pro	Ala	Phe	Arg	Tyr	Gln	Pro	Asp	Pro	Trp
466				470					475					480
Lys	Gly	Ser	Ala	Ala	Lys	Gly	Thr	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Lys	Thr
481				485					490					495
Phe	Lys	Glu	Val	Ala	Asn	Ala	Val	Lys	Ile	Ser	Ala	Ser	Leu	Met
496				500					505					510
Gly	Thr	Val	Met	Ala	Lys	Arg	Val	Lys	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Gly
511				515					510					525
Ser	Glu	Thr	Gly	Arg	Ala	Gln	Ser	Tyr	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Arg
526				530					535					540
Leu	Phe	Arg	Lys	Ala	Phe	Asp	Pro	Arg	Val	Leu	Cys	Met	Asp	Glu
541				545					550					555
Tyr	Asp	Val	Val	Ser	Leu	Glu	His	Glu	Thr	Leu	Val	Leu	Val	Val
556				560					565					570
Thr	Ser	Thr	Phe	Gly	Asn	Gly	Asp	Pro	Pro	Glu	Asn	Gly	Glu	Ser
571				575					580					585
Phe	Ala	Ala	Ala	Leu	Met	Glu	Met	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Ser	Ser
586				590					595					600
Pro	Arg	Pro	Glu	Gln	His	Lys	Ser	Tyr	Lys	Ile	Arg	Phe	Asn	Ser
601				605					610					615
Ile	Ser	Cys	Ser	Asp	Pro	Leu	Val	Ser	Ser	Trp	Arg	Arg	Lys	Arg
616				620					625					630
Lys	Glu	Ser	Ser	Asn	Thr	Asp	Ser	Ala	Gly	Ala	Leu	Gly	Thr	Leu
631				635					640					645

Arg Phe Cys Val Phe Gly Leu GLys er Arg Ala Tyr Pro His Phe			
646	650	655	660
Cys Ala Phe Ala Arg Ala Val Asp Thr Arg Leu Glu Glu Leu Gly			
661	665	670	675
Gly Glu Arg Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Asp Glu Leu Cys Gly			
676	680	685	690
Gln Glu Glu Ala Phe Arg Gly Trp Ala Gln Ala Ala Phe Gln Ala			
691	695	700	705
Ala Cys Glu Thr Phe Cys Val Gly Glu Asp Ala Lys Ala Ala Ala			
706	710	715	720
Arg Asp Ile Phe Ser Pro Lys Arg Ser Trp Lys Arg Gln Arg Tyr			
721	725	730	735
Arg Leu Ser Ala Gln Ala Glu Gly Leu Gln Leu Leu Pro Gly Leu			
736	740	745	750
Ile His Val His Arg Arg Lys Met Phe Gln Ala Thr Ile Arg Ser			
751	755	760	765
Val Glu Asn Leu Gln Ser Ser Lys Ser Thr Arg Ala Thr Ile Leu			
766	770	775	780
Val Arg Leu Asp Thr Gly Gly Gln Glu Gly Leu Gln Tyr Gln Pro			
781	785	790	795
Gly Asp His Ile Gly Val Cys Pro Pro Asn Arg Pro Gly Leu Val			
796	800	805	810
Glu Ala Leu Leu Ser Arg Val Glu Asp Pro Pro Ala Pro Thr Glu			
811	815	820	825
Pro Val Ala Val Glu Gln Leu Glu Lys Gly Ser Pro Gly Gly Pro			
826	830	835	840
Pro Pro Gly Trp Val Arg Asp Pro Arg Leu Pro Pro Cys Thr Leu			
841	845	850	855
Arg Gln Ala Leu Thr Phe Phe Leu Asp Ile Thr Ser Pro Pro Ser			
856	860	865	870
Pro Gln Leu Leu Arg Leu Leu Ser Thr Leu Ala Glu Glu Pro Arg			
871	875	880	885
Glu Gln Gln Glu Leu Glu Ala Leu Ser Gln Asp Pro Arg Arg Tyr			
886	890	895	900

Glu Glu Trp Lys Trp Phe Arg Cys Pro Thr Leu Leu Glu Val Leu			
901	905	910	915
Glu Gln Phe Pro Ser Val Ala Leu Pro Ala Pro Leu Leu Leu Thr			
916	920	925	930
Gln Leu Pro Leu Leu Gln Pro Arg Tyr Tyr Ser Val Ser Ser Ala			
931	935	940	945
Pro Ser Thr His Pro Gly Glu Ile His Leu Thr Val Ala Val Leu			
946	950	955	960
Ala Tyr Arg Thr Gln Asp Gly Leu Gly Pro Leu His Tyr Gly Val			
961	965	970	975
Cys Ser Thr Trp Leu Ser Gln Leu Lys Pro Gly Asp Pro Val Pro			
976	980	985	990
Cys Phe Ile Arg Gly Ala Pro Ser Phe Arg Leu Pro Pro Asp Pro			
991	995	1000	1005
Ser Leu Pro Cys Ile Leu Val Gly Pro Gly Thr Gly Ile Ala Pro			
1006	1010	1015	1020
Phe Arg Gly Phe Trp Gln Glu Arg Leu His Asp Ile Glu Ser Lys			
1021	1025	1030	1035
Gly Leu Gln Pro Thr Pro Met Thr Leu Val Phe Gly Cys Arg Cys			
1036	1040	1045	1050
Ser Gln Leu Asp His Leu Tyr Arg Asp Glu Val Gln Asn Ala Gln			
1051	1055	1060	1065
Gln Arg Gly Val Phe Gly Arg Val Leu Thr Ala Phe Ser Arg Glu			
1066	1070	1075	1080
Pro Asp Asn Pro Lys Thr Tyr Val Gln Asp Ile Leu Arg Thr Glu			
1081	1085	1090	1095
Leu Ala Ala Glu Val His Arg Val Leu Cys Leu Glu Arg Gly His			
1096	1100	1105	1110
Met Phe Val Cys Gly Asp Val Thr Met Ala Thr Asn Val Leu Gln			
1111	1115	1120	1125
Thr Val Gln Arg Ile Leu Ala Thr Glu Gly Asp Met Glu Leu Asp			
1126	1130	1135	1140
Glu Ala Gly Asp Val Ile Gly Val Leu Arg Asp Gln Gln Arg Tyr			
1141	1145	1150	1155

His Glu Asp Ile Phe Gly Leu Thr Leu Arg Thr Gln Glu Val Thr
 1156 1160 1165 1170
 Ser Arg Ile Arg Thr Gln Ser Phe Ser Leu Gln Glu Arg Gln Leu
 1171 1175 1180 1185
 Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Ser Asp Thr
 1186 1190 1195 1200
 Asn Ser Pro
 1201 1203

Các trình tự sau của mảnh NO-syntaza nội mô cụ thể được bao gồm làm kháng nguyên thích hợp

SEQ ID NO: 17
 Pro Trp Ala Phe
 1192 1195

SEQ ID NO: 18
 Gly Ala Val Pro
 1189 1192

SEQ ID NO: 19

Arg
1185
 His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro
 1186 1190 1195 1200
 Asp Thr Pro Gly Pro
 1201 1205

SEQ ID NO: 20

Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro
11941195 1200
 Asp Thr Pro Gly Pro
 1201 1205

SEQ ID NO: 21

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp
 1186 1190 11951196

SEQ ID NO: 22

His	Leu	Arg	Gly	Ala	Val	Pro	Trp	Ala	Phe	Asp	Pro	Pro	Gly	Pro
1186					1190				1195					1200
Asp	Thr	Pro	Gly	Pro										
1201					1205									

Dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của mỗi thành phần của hỗn hợp có thể được điều chế từ dung dịch ban đầu bằng cách tăng cường hiệu lực theo phép vi lượng đồng căn, tốt hơn nếu sử dụng phương pháp làm giảm nồng độ theo tỷ lệ bằng cách pha loãng theo dãy 1 phần của mỗi dung dịch đứng trước (bắt đầu bằng dung dịch ban đầu) trong 9 phần (đối với sự pha loãng thập phân), hoặc trong 99 phần (đối với sự pha loãng theo phần trăm), hoặc trong 999 phần (đối với sự pha loãng theo phần nghìn) dung môi trung tính, kết hợp với tác động bên ngoài. Tốt hơn là, tác động bên ngoài bao gồm nhiều lần lắc theo phương thẳng đứng (động lực hóa) mỗi lần pha loãng. Tốt hơn là, các đồ chứa riêng rẽ được sử dụng đối với mỗi lần pha loãng tiếp theo đến mức công hiệu, hoặc hệ số pha loãng yêu cầu. Phương pháp này đã được chấp nhận rộng rãi trong lĩnh vực vi lượng đồng căn. Xem, ví dụ, V. Schwabe "Homeopathic medicines", M., 1967, p. 14-29, tài liệu này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

Ví dụ, để điều chế dung dịch pha loãng 12 phần trăm (được biểu thị là C12), một phần dung dịch nền ban đầu của các kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người với nồng độ bằng 3,0 mg/ml được pha loãng trong 99 phần dung môi gốc nước hoặc gốc nước-rượu trung tính (tốt hơn là, rượu etylic 15%) và sau đó lắc theo phương thẳng đứng nhiều lần (10 lần và hơn 10 lần) để tạo ra dung dịch pha loãng theo phần trăm thứ nhất (được biểu thị là C1). Dung dịch pha loãng theo phần trăm thứ hai (C2) được điều chế từ dung dịch pha loãng theo phần trăm thứ nhất C1. Quy trình này được lặp lại 11 lần để điều chế dung dịch pha loãng theo phần trăm thứ mười hai C12. Như vậy, dung dịch pha loãng theo phần trăm thứ mười hai C12 biểu thị dung dịch thu được bằng 12 lần pha loãng theo dãy một phần dung dịch nền ban đầu của các kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người với nồng độ bằng 3,0 mg/ml trong 99 phần dung môi trung tính trong các đồ chứa khác nhau, tương đương với dung dịch pha loãng theo phần trăm theo phép vi lượng đồng căn C12. Các quy trình tương tự với hệ số pha

loãng thích hợp được tiến hành để thu được các dung dịch pha loãng C30 và C 200.

Các dung dịch pha loãng trung gian có thể được thử nghiệm trong mô hình thử nghiệm sinh học mong muốn để kiểm tra hoạt tính. Các dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực được ưu tiên đối với cả hai kháng thể bao gồm hỗn hợp theo sáng chế là hỗn hợp của các dung dịch pha loãng C12, C30, và C200. Khi sử dụng hỗn hợp của các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn khác nhau (chủ yếu là theo phần trăm) của chất hoạt tính dưới dạng thành phần lỏng có hoạt tính về mặt sinh học, mỗi thành phần của hợp phần (ví dụ, C12, C30, C200) được điều chế riêng rẽ theo quy trình đã được mô tả trên đây cho đến khi thu được dung dịch pha loãng tiếp theo đến cuối cùng (ví dụ cho đến khi thu được C11, C29, và C199, một cách tương ứng), và sau đó một phần của mỗi thành phần được bổ sung trong một đồ chứa theo hợp phần hỗn hợp và được trộn với lượng dung môi yêu cầu (ví dụ, với 97 phần đối với sự pha loãng theo phần trăm).

Có thể sử dụng chất hoạt tính dưới dạng hỗn hợp của các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn khác nhau, ví dụ, thập phân và/hoặc theo phần trăm (D 20, C 30, C100 hoặc C12, C30, C50 v.v.), hiệu quả của nó được xác định bằng thực nghiệm bằng cách thử nghiệm dung dịch pha loãng trong mô hình thử nghiệm sinh học thích hợp, ví dụ, trong các mô hình thử nghiệm được mô tả trong các ví dụ theo sáng chế.

Trong quá trình tăng cường hiệu lực và làm giảm nồng độ, việc lắc theo phương thẳng đứng có thể được thay thế cho sự tiếp xúc bên ngoài với siêu âm, trường điện từ hoặc quy trình tác động bên ngoài tương tự bất kỳ đã được chấp nhận trong lĩnh vực vi lượng đồng căn.

Tốt hơn là, dược phẩm theo sáng chế có thể ở dạng lỏng hoặc ở dạng liều lượng đơn vị rắn. Dạng lỏng được ưu tiên của dược phẩm là hỗn hợp, tốt hơn là, ở tỷ lệ 1:1 của dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người và dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể kháng NO-syntaza nội mô. Chất mang lỏng được ưu tiên là nước hoặc hỗn hợp nước-rượu etylic.

Dạng liều lượng đơn vị rắn của dược phẩm theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách sử dụng việc tẩm chất mang rắn, được dụng với hỗn hợp của dạng được

hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các dung dịch gốc nước hoặc gốc nước-rượu của các thành phần hoạt tính được trộn, chủ yếu là với tỷ lệ 1:1 và được sử dụng ở dạng liều lượng lỏng. Theo cách khác, chất mang có thể được tẩm liên tiếp với mỗi dung dịch pha loãng cần thiết. Cả hai thứ tự tẩm đều có thể chấp nhận được.

Tốt hơn là, dược phẩm ở dạng liều lượng đơn vị rắn được điều chế từ các hạt của chất mang được dụng mà trước đó đã được làm bão hòa với dung dịch pha loãng gốc nước hoặc gốc nước-rượu của dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người và dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể kháng NO-syntaza nội mô. Dạng liều rắn có thể ở dạng bất kỳ đã biết trong lĩnh vực dược phẩm, bao gồm viên nén, viên nang, viên thuốc hình thoi, và các dạng khác. Để làm các thành phần được không hoạt tính, có thể sử dụng glucoza, sucroza, maltoza, amylum, isomaltoza, isomalt và các mono- olygo- và polysacarit khác được sử dụng trong sản xuất dược phẩm cũng như hỗn hợp kỹ thuật của các thành phần được không hoạt tính đã được đề cập trên đây với các tá dược được dụng khác, ví dụ isomalt, crospovidon, natri xyclamat, natri sacarin, axit xitric khan, v.v.), bao gồm chất làm trơn, chất làm phân rã, chất kết dính và chất tạo màu. Chất mang được ưu tiên là lactoza và isomalt. Dạng liều lượng được có thể còn bao gồm tá dược được dụng chuẩn, ví dụ, xenluloza vi tinh thể và magie stearat.

Để điều chế dạng rắn dùng qua đường miệng, 100-300 μm hạt lactoza được tẩm với dung dịch gốc nước hoặc gốc nước-rượu của dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể kháng histamin, dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người và dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể kháng NO-syntaza nội mô với tỷ lệ 1 kg dung dịch kháng thể so với 5 hoặc 10 kg lactoza (1:5 đến 1:10). Để thực hiện bước tẩm, hạt lactoza được tẩm bão hòa trong tầng sôi hóa lỏng trong thiết bị tầng sôi (ví dụ, "Hüttlin Pilotlab" bởi Hüttlin GmbH) tiếp theo làm khô thông qua dòng khí đã được gia nhiệt ở nhiệt độ dưới 40°C. Lượng ước tính của các hạt được làm khô (10 đến 34 phần khối lượng) đã được làm bão hòa với dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể được đặt trong máy trộn, và được trộn với 25 đến 45 phần khối lượng của lactoza tinh khiết "không được làm bão hòa" (được sử dụng nhằm mục đích làm giảm chi phí và đơn giản hóa và

xúc tiến quy trình công nghệ mà không làm giảm hiệu quả xử lý), cùng với 0,1 đến 1 phần khối lượng magie stearat, và 3 đến 10 phần khối lượng xenluloza vi tinh thể. Khối lượng viên nén thu được được trộn đồng đều, và được nén bằng cách nén khô trực tiếp (ví dụ, trong máy ép Korsch – XL 400 viên nén) để tạo thành 150 đến 500 mg viên tròn, tốt hơn là, 300 mg. Sau khi tạo viên nén, thu được các viên tròn 300mg đã được làm bão hòa với dung dịch gốc nước-rượu (3,0-6,0 mg/viên tròn) của hỗn hợp của dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người và dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể kháng NO-syntaza nội mô. Mỗi thành phần của hỗn hợp được sử dụng để tẩm chất mang là ở dạng hỗn hợp của các dung dịch pha loãng theo phần trăm theo phép vi lượng đồng căn C12, C30, và C50 hoặc hỗn hợp của các dung dịch pha loãng theo phần trăm theo phép vi lượng đồng căn C12, C30 và C200.

Mặc dù sáng chế không bị giới hạn ở lý thuyết cụ thể bất kỳ, tin rằng dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực của các kháng thể được mô tả ở đây không chứa dạng phân tử của kháng thể với lượng đủ để có hoạt tính sinh học được quy cho dạng phân tử này. Hoạt tính sinh học của hỗn hợp theo sáng chế đã được chứng minh một cách đầy đủ trong các ví dụ đính kèm.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng cho bệnh nhân bị bệnh đái tháo đường thuộc loại bất kỳ.

Dược phẩm đã nêu có thể được sử dụng để điều trị bệnh đái tháo đường dưới dạng đơn trị liệu chứng tăng glucoza-huyết và trong trị liệu kết hợp dưới dạng trị liệu bổ sung cho liệu pháp thay thế insulin; và/hoặc với chất giảm glucoza huyết qua đường miệng như biguanua (metformin); sulfonylure (glybenclamit, glipizit, gliclazit, glicvidon, glimepirit); thiazolidindion (rosiglitazon); chất ức chế alpha-glucosidaza (acarboza) v.v.; cũng như trị liệu bổ sung cho trị liệu kết hợp đối với bệnh đái tháo đường để ngăn ngừa biến chứng đái tháo đường.

Như được thể hiện trong các ví dụ kèm theo, việc sử dụng hỗn hợp theo sáng chế cho các bệnh nhân này cải thiện mức glucoza trong máu.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Hai nghiên cứu thử nghiệm nghiên cứu tác dụng của các kháng thể kháng mảnh đầu tận C đối với cấu trúc tiểu đơn vị β của thụ thể insulin đã được tinh chế ái lực trên kháng nguyên, với liều cực thấp, thu được bằng cách siêu pha loãng dung dịch nền ban đầu 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} lần (ULD kháng IR), các kháng thể kháng NO-syntaza nội mô đã được tinh chế ái lực trên kháng nguyên, với liều cực thấp, thu được bằng cách siêu pha loãng dung dịch nền ban đầu 100^{12} , 100^{30} , 100^{200} (ULD kháng ULD kháng eNOS), cũng như hỗn hợp của các liều cực thấp của các kháng thể kháng mảnh đầu tận C đối với cấu trúc tiểu đơn vị β của thụ thể insulin và liều cực thấp của các kháng thể kháng NO-syntaza nội mô (ULD kháng IR + ULD kháng eNOS).

Theo tiêu chuẩn của Tổ chức y tế thế giới (WHO), bệnh đái tháo đường (typ I và II) được đặc trưng bởi sự tăng mức glucoza trong máu (chứng tăng glucoza-huyết) và bởi sự xáo trộn khả năng dung nạp glucoza. Sự xáo trộn khả năng dung nạp glucoza có thể gây ra do sự tiết insulin bất thường và/hoặc độ nhạy insulin giảm của các mô ngoại vi. Thử nghiệm dung nạp glucoza, dựa trên đánh giá động khả năng sử dụng glucoza của các mô của cơ thể, là phương pháp nhạy để đánh giá sự xáo trộn khả năng dung nạp glucoza của các mô của cơ thể.

Nghiên cứu 1

Trong nghiên cứu này, 150 con chuột Wistar đực được sử dụng (cân nặng lúc bắt đầu nghiên cứu là 250-300 g, 3,5-4 tháng tuổi). 10 con chuột không bị tác động. Các con chuột còn lại được tiêm trong tĩnh mạch streptozotoxin với liều 50 mg/kg (Mô hình thử nghiệm bệnh đái tháo đường). 72 giờ sau khi tiêm streptozotoxin, các con chuột có mức glucoza trong huyết tương máu không nhỏ hơn 12mmol/l được chọn, được chia thành 7 nhóm (20 con chuột mỗi nhóm), các nhóm này trong 21 ngày được cho dùng nước cất (5 ml/kg/ngày, một lần một ngày trong dạ dày), insulin® (8 đơn vị/kg/ngày, dưới da), Rosiglitazon® (8 mg/kg/ngày, hai lần một ngày trong dạ dày), ULD kháng IR (2,5 ml/kg/ngày trong thể tích 5 ml/kg/ngày, một lần một ngày trong dạ dày), ULD kháng IR + ULD kháng eNOS (5 ml/kg/ngày, một lần một ngày trong dạ dày), và cả Rosiglitazon® và insulin® cùng nhau hoặc ULD kháng IR + ULD kháng eNOS và insulin®, theo chế độ tương ứng với mỗi chế phẩm (như được nêu trên đây). Các con chuột không bị tác động nhận được nước cất với cùng thể tích. Vào ngày tiêm chế phẩm thứ 7, 14 và 21 ở chuột, mức glucoza trong huyết tương máu khi đói được

xác định bằng phương pháp enzym (phương pháp glucoza oxidaza) có sử dụng bộ kit “glucoza FKD” (Nga).

Thử nghiệm dung nạp glucoza qua đường miệng (OGTT) được tiến hành vào ngày 14 của quá trình nghiên cứu (ngày 14 sử dụng chế phẩm) theo phương pháp tiêu chuẩn (Du Vigneaud and Karr, 1925). Chuột không được cho uống nước trong 18 giờ. 60 phút trước thử nghiệm, chúng được cho dùng các chất thử nghiệm lần cuối cùng. Các con chuột không bị tác động nhận nước cất với cùng thể tích. Glucoza được sử dụng cho mỗi dung dịch nước glucoza 50% theo khối lượng qua đường miệng (1 g/kg cân nặng của chuột). Glucoza trong huyết thanh của mẫu máu từ đuôi tĩnh mạch được xác định bằng cách sử dụng bộ kit “Glucoza FKD” (OOO"Pharamaceutical and clinical diagnostics, Russia, www.fkd.ru) tại thời điểm 0, 30, 60, 90, 120 phút. Diện tích trung bình dưới đường cong (AUC) nồng độ của glucoza máu theo thời gian được tính toán.

Việc tiêm streptozotocin dẫn đến sự tăng đáng kể glucoza trong huyết tương máu của chuột so với các động vật không bị tác động (18mmol/l so với 3,5mmol/l, $p<0,05$). Trong nhóm ULD kháng IR, vào ngày tiêm chế phẩm thứ 7, 14 và 21, mức glucoza là thấp hơn so với nhóm đối chứng 22-28% tính trung bình; tuy nhiên, sự khác biệt không đạt đến mức có ý nghĩa về mặt thống kê. Hỗn hợp của ULD kháng IR và kháng eNOS là có hiệu quả hơn; sự giảm mức glucoza vào ngày 14 và 21 của thử nghiệm là 47% và 42%, một cách tương ứng ($p<0,05$ so với đối chứng). Chế phẩm tham chiếu, Rosiglitazon, cũng làm giảm mức glucoza vào ngày 14 và 21 của thử nghiệm; tại thời điểm đó, tác dụng chỉ đạt đến mức ý nghĩa về mặt thống kê vào ngày 14 của thử nghiệm (36%, $p<0,05$ so với đối chứng).

Insulin, được tiêm ở 1/2 liều hữu hiệu (được chọn trong nghiên cứu sơ bộ) làm giảm một cách hiệu quả nhất mức glucoza trong tất cả các khoảng thời gian quan sát (giảm xuống mức của các con chuột đối chứng không bị tác động). (Fig. 1). Cần phải tính đến rằng insulin tác dụng ngắn được sử dụng trong nghiên cứu và glucoza trong huyết tương máu được xác định 1 giờ sau khi tiêm, điều này cũng ảnh hưởng đến tác động của 1/2 liều insulin đối với mức glucoza trong máu. So với nền này, không thể xác định một cách đầy đủ mức độ ảnh hưởng của việc sử dụng kết hợp insulin và rosiglitazon hoặc insulin và phức chất ULD kháng IR + kháng eNOS là gì.

Sự xáo trộn khả năng dung nạp glucoza (sự giảm sử dụng glucoza bởi cơ thể) là một trong số các chỉ số quan trọng nhất trong chẩn đoán và điều trị bệnh đái tháo đường. Ở các động vật không bị tác động, trong thử nghiệm dung nạp glucoza qua đường miệng (ngày tiêm chế phẩm thứ 14), chế phẩm phức hợp ULD kháng IR + ULD kháng eNOS và insulin làm tăng một cách hiệu quả nhất sự dung nạp glucoza khi được dùng một mình. Rosiglitazon cũng làm giảm diện tích dưới đường cong nồng độ theo thời gian (sự dung nạp glucoza tăng); tuy nhiên, công hiệu của nó không có ý nghĩa về mặt thống kê so với nhóm đối chứng (Fig. 2).

Nghiên cứu 2.

Trong nghiên cứu này, 36 con chuột đực Goto-Kakizaki được sử dụng (cân nặng lúc bắt đầu nghiên cứu 250-280 g, 10-12 tuần tuổi). Các con chuột thuộc dòng này được đặc trưng bởi sự phát triển tự phát bệnh đái tháo đường không phụ thuộc insulin. Các con chuột được chia thành 3 nhóm (12 chuột trong mỗi nhóm) và nhận nước cất (5 ml/kg, một lần một ngày trong dạ dày), hoặc ULD kháng IR (2,5 ml/kg một lần một ngày trong dạ dày), hoặc ULD kháng IR + ULD kháng eNOS (5 ml/kg, một lần một ngày trong dạ dày) trong 28 ngày. Mức glucoza trong huyết tương máu được xác định với sự trợ giúp của thiết bị phân tích glucoza (Beckman, Fullerton, California, USA) trước khi bắt đầu tiêm chế phẩm và vào ngày tiêm chế phẩm thứ 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28. Vào ngày 28, thử nghiệm dung nạp glucoza được tiến hành (glucoza qua đường miệng, 1 g/kg).

Việc tiêm ULD kháng IR dẫn đến sự giảm đáng kể ($p < 0,05$) mức glucoza trong huyết tương máu của các con chuột; tuy nhiên, việc sử dụng phức hợp ULD kháng IR + ULD kháng eNOS là có hiệu quả hơn ($p < 0,001$ so với đối chứng) (Fig. 3).

Các kết quả được xác nhận bởi số liệu thử nghiệm dung nạp glucoza được tiến hành vào ngày tiêm chế phẩm thứ 28 (Fig. 4). Việc tiêm ULD kháng IR dẫn đến sự tăng khả năng dung nạp glucoza (sự giảm không có ý nghĩa về mặt thống kê là 44% AUC so với đối chứng). Đồng thời, việc giảm thông số này (AUC) gây ra bởi việc tiêm phức chất ULD kháng IR + ULD kháng eNOS là 62% và nó có ý nghĩa về mặt thống kê so với đối chứng ($p < 0,05$).

Ví dụ 2

Nghiên cứu lâm sàng hỗn hợp của các liều cực thấp của các kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin (ULD kháng IR) và các liều cực thấp của các kháng thể kháng NO-syntaza nội mô (ULD kháng eNOS), mỗi liều này ở dạng hỗn hợp nước-rượu của các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn C12, C30, và C200 được tẩm lên trên isomalt được tiến hành ở người.

Nghiên cứu không so sánh nhãn mở về công hiệu và độ an toàn của ULD kháng IR + ULD kháng eNOS ở các bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường typ 1 (DM) bao gồm các bệnh nhân bị chẩn đoán DM typ 1 với mức độ nghiêm trọng từ nhẹ đến vừa mà không có các dấu hiệu bệnh lý đại mạch và vi mạch nghiêm trọng. Sau khi nhận được văn bản ưng thuận được khai báo tự nguyện của bệnh nhân để tham gia vào thử nghiệm lâm sàng, khảo sát ban đầu được tiến hành nhằm mục đích thiết lập xem bệnh nhân có đáp ứng tiêu chuẩn bao hàm/loại trừ hay không. Giai đoạn “làm sạch thuốc” hai tuần được đưa ra trước khi bắt đầu nghiên cứu, trong quá trình đó, tiến hành thăm khám bệnh nhân (các dấu hiệu về tình trạng than phiền, glucoza huyết khi đói, hemoglobin đã được glycat hóa, profin glucoza-huyết hằng ngày và biểu đồ lipoprotein cũng như công hiệu và độ an toàn của điều trị hiện tại được đánh giá). Trong nghiên cứu kéo dài 12 tuần, các điểm cuối quan trọng được xác định trong tuần “làm sạch thuốc”, sau đó tại thời điểm tuần 6 và 12 của quá trình điều trị. Ở 4 bệnh nhân, trong thời gian “làm sạch thuốc” và vào cuối nghiên cứu, tiến hành theo dõi liên tục mức glucoza-huyết với sự trợ giúp của hệ CGMS. Hệ theo dõi glucoza liên tục (CGMS) làm cho có thể kiểm soát mức glucoza trong ba ngày. Các kết quả thử nghiệm cho thấy sự thay đổi mức glucoza trong 3 ngày, phụ thuộc vào trị liệu insulin và lối sống. Số liệu này giúp phân biệt khoảng thời gian có mức glucoza cao hoặc thấp phụ thuộc vào chế độ ăn uống, sự hấp thụ thuốc hoặc tải nạp của cơ thể. Hệ ở dạng biểu đồ cho thấy mức glucoza tối thiểu bằng 2,2mmol/L, các giá trị tối đa lên đến 22,2mmol/L, và cả mức glucoza trong máu trung bình hằng ngày.

Bệnh nhân mắc DM typ 1, mức độ nghiêm trọng từ nhẹ đến vừa, ở giai đoạn mất bù, nhận trị liệu insulin chuẩn trước khi được bao gồm trong nghiên cứu và trong quá trình nghiên cứu:

1. Insulin tác dụng kéo dài (Protaphane®, Lantus®) với liều trung bình từ 12 đến 26 U/ngày.

2. Insulin tác dụng ngắn (Apidra®, Novorapid®, Aktropid®) với liều trung bình:

- sáng 8-10 U/ngày

- trưa 8-12 U/ngày

- tối 8-13 U/ngày

Sau khi xác nhận khả năng tham gia của bệnh nhân, bệnh nhân được bao gồm trong nghiên cứu và, để trị liệu DM typ 1 bổ sung với trị liệu chuẩn, bệnh nhân nhận được chế phẩm ULD kháng IR + ULD kháng eNOS; chế độ sử dụng này tùy thuộc vào mức độ nghiêm trọng và độ bù của DM typ 1. Bệnh nhân bao gồm trong nghiên cứu nhận được trị liệu bởi chế phẩm ULD kháng IR + ULD kháng eNOS với các liều lượng khác nhau:

1. Bốn bệnh nhân – 1 viên nén 4 lần một ngày vào lúc 8:00 sáng, 12:00 trưa, 6:00 chiều, 10:00 tối.

2. Hai bệnh nhân – 1 viên nén 2 lần một ngày vào lúc 8:00 sáng, 6:00 chiều.

Vào các tuần 3 và 8, profin glucoza-huyết hằng ngày cũng được kiểm soát (xác định tám điểm) và bệnh nhân được liên lạc qua điện thoại (“thăm khám” qua điện thoại). Các xét nghiệm lâm sàng được thực hiện mỗi tuần. Tổng cộng, bệnh nhân được theo dõi trong 14 tuần.

Sáu bệnh nhân được bao gồm trong nghiên cứu, năm trong số họ hoàn thành theo protocol nghiên cứu. Đánh giá glucoza-huyết được tiến hành bởi profin glucoza hằng ngày tám điểm tại đường cơ sở và sau 3, 6 và 12 tuần điều trị. Mức hemoglobin đã được glucat hóa được xác định tại đường cơ sở và sau 12 tuần trị liệu.

Tất cả các bệnh nhân DM typ 1 được bao gồm trong nghiên cứu đều nhận thấy rằng glucoza huyết hằng ngày có xu hướng giảm sau trị liệu 6 tuần bằng các thuốc nghiên cứu. Theo profin glucoza hằng ngày tám điểm, sự giảm trung bình glucoza huyết bằng 20% được ghi lại ở các bệnh nhân mắc DM typ 1. Sau 12 tuần trị liệu, hemoglobin đã được glycat hóa tính trung bình thấp hơn 10-15% so với giá trị đường cơ sở.

Theo các kết quả theo dõi glucoza liên tục với hệ CGMS ở tất cả các bệnh nhân, trị liệu 3 tháng bởi ULD kháng IR + ULD kháng eNOS tạo ra sự giảm glucoza huyết

hằng ngày trung bình và dao động giảm của glucoza huyết tối thiểu và tối đa bằng 15-20% đường cơ sở.

Ngạc nhiên là, ở bệnh nhân số 103 mắc DM typ 1 ở giai đoạn mất bù, sự giảm đáng kể trong glucoza huyết hằng ngày bằng 48% được quan sát thấy (1 tuần – 8,0mmol/L, 12 tuần – 4,8mmol/L), mà đòi hỏi sự điều chỉnh trị liệu insulin (sự giảm liều lượng hằng ngày của insulin tác dụng ngắn xuống 8 U/d). Động lực của mức glucoza trong máu và hemoglobin đã được glycat hóa được thể hiện trên Fig. 5.

Trong quá trình nghiên cứu, không có hiện tượng bất lợi kể cả hiện tượng bất lợi nghiêm trọng nào được ghi lại, điều này chứng tỏ độ an toàn của chế phẩm.

Ví dụ 3

Nghiên cứu lâm sàng về hỗn hợp của các liều cực thấp của các kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin (ULD kháng IR) và các liều cực thấp của các kháng thể kháng NO-syntaza nội mô (ULD kháng eNOS), mỗi liều ở dạng hỗn hợp nước-rượu của các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn C12, C30, và C200 được tẩm lên trên isomalt được tiến hành ở người.

Nghiên cứu không so sánh nhãn mở về công hiệu và độ an toàn của ULD kháng IR + ULD kháng eNOS ở các bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường (DM) typ 2 bao gồm bệnh nhân với chẩn đoán DM typ 2 có mức độ nghiêm trọng từ nhẹ đến vừa mà không có các dấu hiệu bệnh lý đại mạch và vi mạch nghiêm trọng, nhận được liều lượng trị liệu trung bình của Metformin. Sau khi nhận được văn bản ưng thuận được khai báo tự nguyện của bệnh nhân để tham gia vào thử nghiệm lâm sàng, khảo sát ban đầu được tiến hành nhằm mục đích thiết lập xem bệnh nhân có đáp ứng các tiêu chuẩn bao hàm/loại trừ hay không. Trong quá trình xác nhận khả năng tham gia vào nghiên cứu, bệnh nhân nhận 1 viên nén Subbetta 4 lần một ngày ngoài trị liệu DM typ 2 chuẩn. Thời gian “làm sạch thuốc” 2 tuần được đưa ra trước khi bắt đầu nghiên cứu, trong thời gian đó, tiến hành thăm khám bệnh nhân (các dấu hiệu về sự than phiền, glucoza huyết khi đói, hemoglobin đã được glycat hóa, profin glucoza-huyết hằng ngày và biểu đồ lipoprotein, chỉ số kháng insulin (HOMA-IR) cũng như công hiệu và độ an toàn của điều trị hiện tại được đánh giá). Trong nghiên cứu 12 tuần, các điểm cuối quan trọng được xác định trong các tuần “làm sạch thuốc”, sau đó tại thời điểm tuần 6 và 12 của quá trình điều trị. Ở 4 bệnh nhân, trong thời gian “làm sạch thuốc” và

vào cuối nghiên cứu, tiến hành theo dõi liên tục mức glucoza-huyết với sự trợ giúp của hệ CGMS. Vào tuần 3 và 8, profin glucoza-huyết tám điểm được theo dõi thêm và tiến hành “thăm khám” qua điện thoại. Tình trạng bệnh lâm sàng được kiểm tra mỗi tuần. Tổng cộng, bệnh nhân được theo dõi trong 14 tuần.

Mười một bệnh nhân mắc DM typ 2 ở giai đoạn mất bù được bao gồm trong nghiên cứu. Một bệnh nhân tự nguyện rút khỏi nghiên cứu. Các bệnh nhân còn lại tiếp tục việc điều trị. Ở bệnh nhân DM typ 2, theo số liệu profin hằng ngày tám điểm, sự giảm trung bình glucoza huyết bằng 20% được ghi lại vào tuần 6. Vào tuần 12, nhận thấy sự giảm trung bình hemoglobin đã được glycat hóa bằng 15-19% giá trị đường cơ sở.

Ở tất cả các bệnh nhân trong khoảng thời gian 12 tuần, các thông số thử nghiệm máu (hồng cầu, hemoglobin, bạch cầu, tiểu cầu, công thức bạch cầu, ESR), biểu đồ lipoprotein, EKG, thử nghiệm chức năng gan (ALT, AST, bilirubin và các phân đoạn của nó) vẫn nằm trong giới hạn bình thường. Tính kháng insulin, được xác định bằng thử nghiệm HOMA-IR, giảm trung bình 17-19% giá trị đường cơ sở.

Trong khoảng thời gian nghiên cứu 12 tuần, không có hiện tượng bất lợi kể cả hiện tượng bất lợi nghiêm trọng được ghi lại, chứng tỏ độ an toàn của chế phẩm. Cũng không phát hiện thấy các bất thường đối với hoạt tính chức năng gan .

Động lực của mức glucoza trong máu trung bình và hemoglobin đã được glycat hóa được thể hiện trên Fig. 6.

Ví dụ 4

Bệnh nhân X. (nam, 74 tuổi) đã được chẩn đoán mắc bệnh đái tháo đường Typ II được nhận được Maninil (Glibenclamit, Berlin – Chemie) với liều 5 mg hai lần một ngày. Sự loét chân hoại tử sâu ở xương gót xuất hiện 3 năm trước đây mặc dù bệnh nhân này đã được điều trị. Bệnh nhân đã nhập viện hai lần vào khu vực phẫu thuật; tuy nhiên, việc điều trị không tạo ra sự cải thiện đáng kể. Dược phẩm như được yêu cầu bảo hộ, viên nén 250 mg, bao gồm dạng được hoạt hóa được tăng cường hiệu lực (các liều cực thấp) của các kháng thể kháng đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin (Ab RI) và NO syntaza nội mô (Ab NOS) được tẩm lên trên isomalt dưới dạng hỗn hợp của các dung dịch pha loãng trong nước-etanol theo phép vi lượng đồng căn C12, C30, C200 (Ab RI + Ab NOS) được bổ sung thêm trong trị liệu Maninil. Kết

quả của việc điều trị một tháng, liều Maniil® được giảm xuống 5 mg hằng ngày (một viên trước khi ngủ). Mức glucoza trong máu giảm về các giá trị bình thường (từ 8-10mmol/L đến 5-6mmol/L). Trị liệu đã nêu làm đảo ngược sự phát triển chứng loét chân. Chỗ loét đã được làm tan các khối hoại tử và được tạo da. Khi kiểm tra, chỗ loét đã không còn, và thấy có vùng trắng tròn (đường kính 3,5 cm) da bong vò ở xương gót.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm bao gồm:

- a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người; và
- b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

2. Dược phẩm bao gồm:

- a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người; và
- b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô.

3. Dược phẩm bao gồm:

- a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người; và
- b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô, trong đó thụ thể insulin gồm một cấu trúc tiểu đơn vị alpha và một cấu trúc tiểu đơn vị beta.

4. Dược phẩm bao gồm chất mang rắn được dụng; và

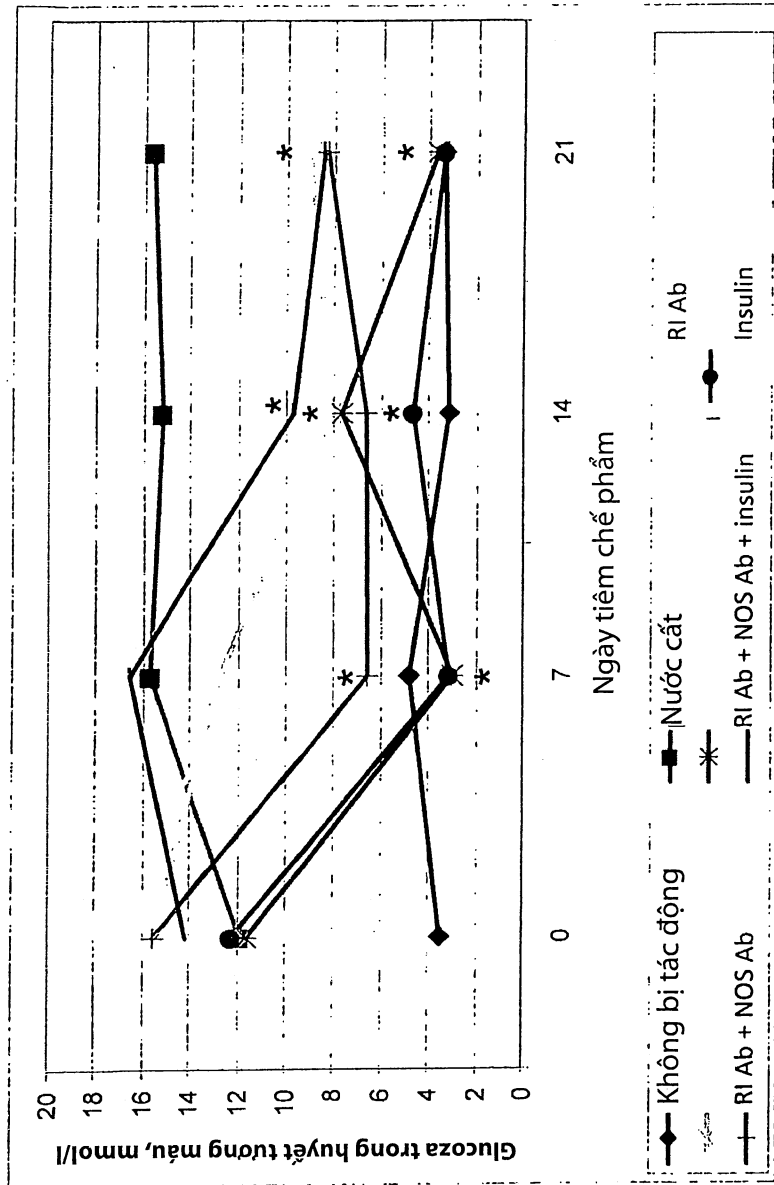
- a) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng mảnh đầu tận C của cấu trúc tiểu đơn vị beta của thụ thể insulin ở người ở dạng hỗn hợp của các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn C12, C30, và C200 được tẩm lên trên chất mang rắn; và
- b) dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô ở dạng hỗn hợp của các dung dịch pha loãng theo phép vi lượng đồng căn C12, C30, và C200 được tẩm lên trên chất mang rắn.

5. Dược phẩm theo điểm 1, 2, 3 hoặc 4, trong đó kháng thể kháng thụ thể insulin ở người là kháng thể đơn dòng, đa dòng hoặc tự nhiên.

6. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó kháng thể kháng thụ thể insulin ở người là kháng thể đa dòng.

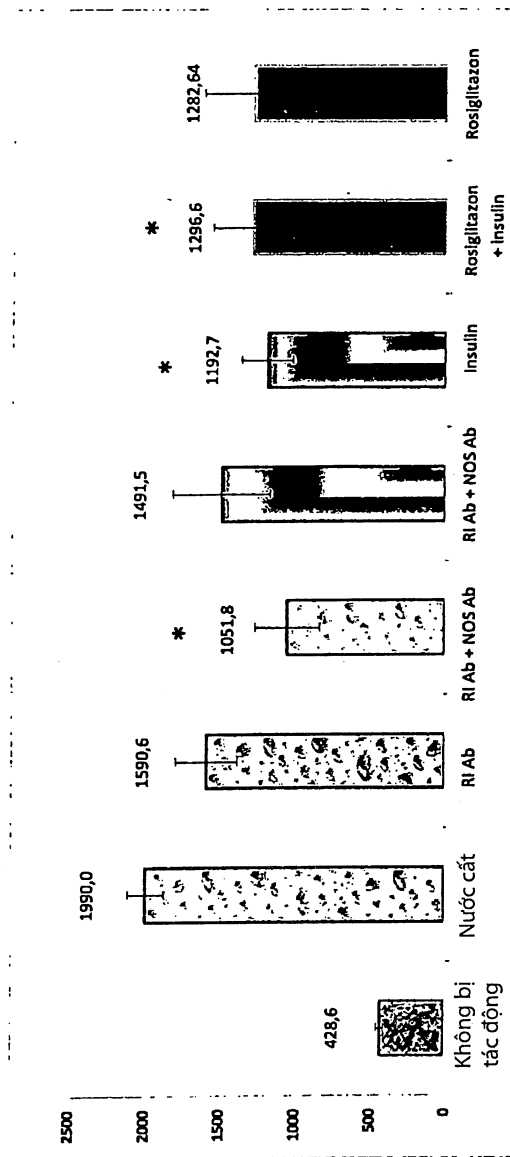
7. Dược phẩm theo điểm 6, dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng thụ thể insulin ở người được điều chế bằng cách pha loãng liên tiếp theo phần trăm kết hợp lacc mỗi lần pha loãng.

8. Dược phẩm theo điểm 1, 2, 3 hoặc 4, trong đó kháng thể kháng NO-syntaza nội mô là kháng thể đơn dòng, đa dòng hoặc tự nhiên.
9. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó kháng thể kháng NO-syntaza nội mô là kháng thể đa dòng.
10. Dược phẩm theo điểm 9, trong đó dạng được hoạt hóa-được tăng cường hiệu lực của kháng thể kháng NO-syntaza nội mô được điều chế bằng cách pha loãng liên tiếp theo phần trăm kết hợp lacc mỗi lần pha loãng.
11. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó thụ thể insulin ở người gồm trình tự được chọn từ nhóm gồm SEQ ID No: 1, SEQ ID No: 2, SEQ ID No: 3, SEQ ID No: 4, SEQ ID No: 5, SEQ ID No: 6, SEQ ID No: 7, SEQ ID No: 8, SEQ ID No: 9, SEQ ID No: 10, SEQ ID No: 11, SEQ ID No: 12, SEQ ID No: 13, SEQ ID No: 14.
12. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó NO syntaza nội mô gồm trình tự được nêu trong 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.



* Sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với đối chứng (dùng nước cất), $p < 0,05$

Fig. 1



* Sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với đối chứng (dùng nước cất), $p < 0,05$

Fig. 2

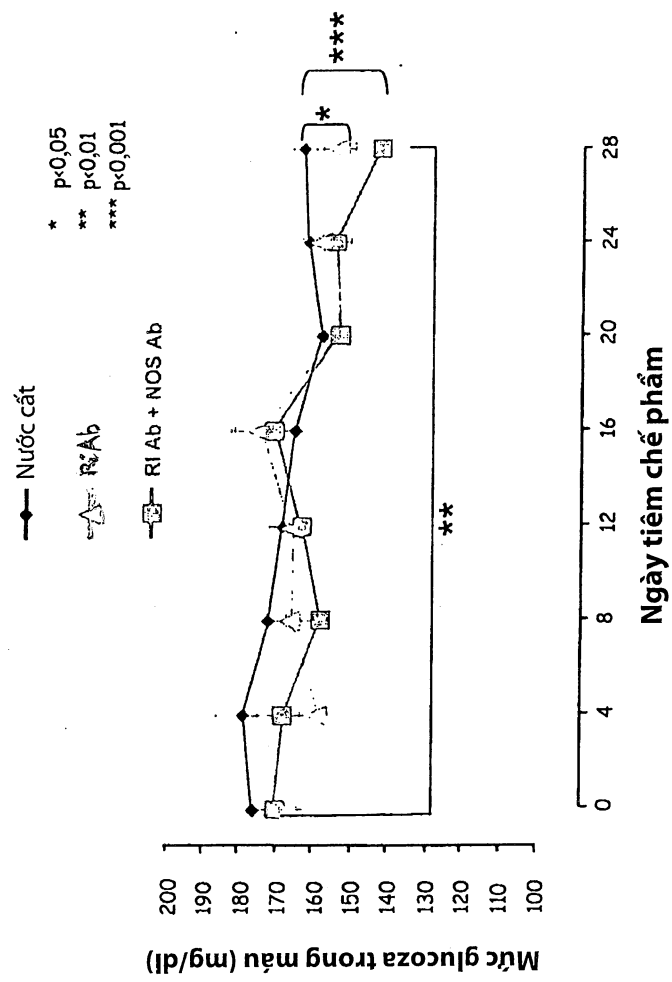


Fig. 3

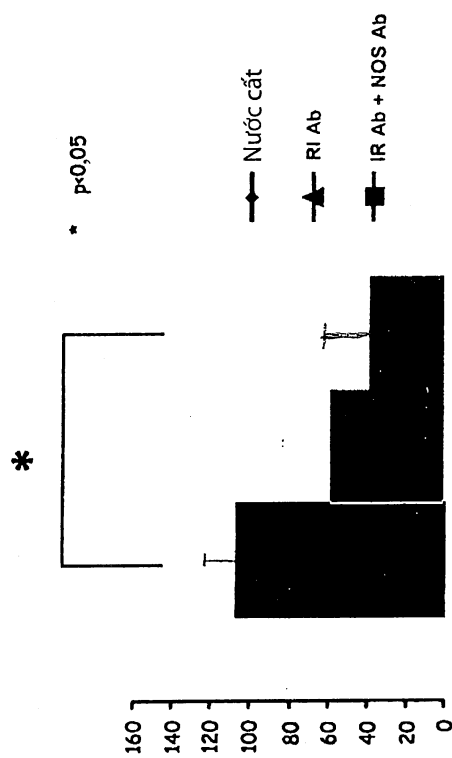


Fig. 4

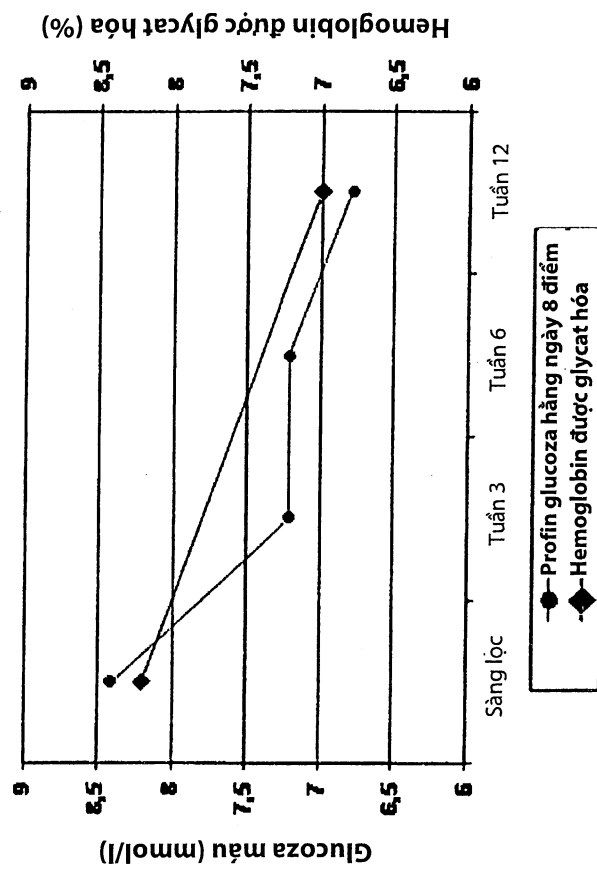


Fig. 5

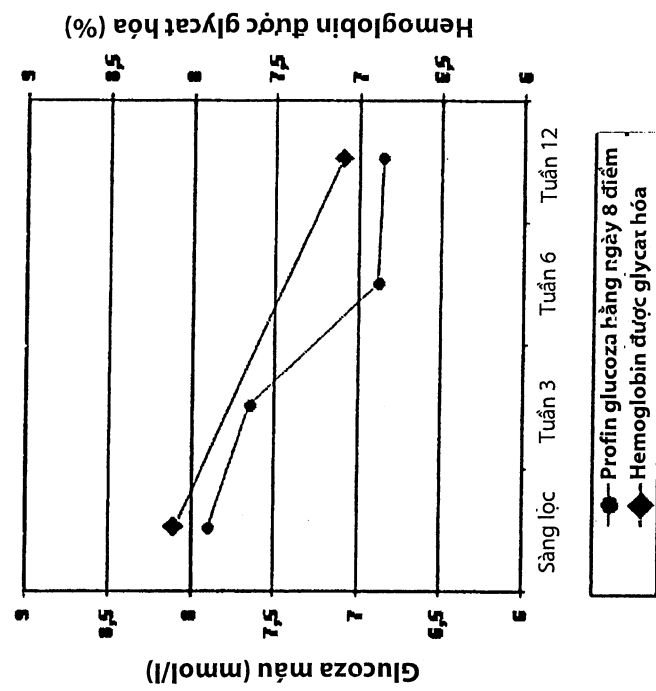


Fig. 6

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Epshtein, Oleg Iliich

<120> DƯỢC PHẨM KẾT HỢP ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG VÀ RỐI LOẠN CHUYỂN HÓA

<130> 841-026-PCT

<140> PCT/IB2011/002177

<141> 2011-07-15

<150> RU201010130348

<151> 2010-07-21

<150> RU2011127051

<151> 2011-07-01

<160> 22

<170> BiSSAP 1.0

<210> 1

<211> 735

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> NGUỒN

<222> 1..735

<223> /mol_type="protein"
/sinh vật="Homo sapiens"

<400> 1

```

His Leu Tyr Pro Gly Glu Val Cys Pro Gly Met Asp Ile Arg Asn Asn
1          5          10          15
Leu Thr Arg Leu His Glu Leu Glu Asn Cys Ser Val Ile Glu Gly His
20          25          30
Leu Gln Ile Leu Leu Met Phe Lys Thr Arg Pro Glu Asp Phe Arg Asp
35          40          45
Leu Ser Phe Pro Lys Leu Ile Met Ile Thr Asp Tyr Leu Leu Leu Phe
50          55          60
Arg Val Tyr Gly Leu Glu Ser Leu Lys Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr
65          70          75          80
Val Ile Arg Gly Ser Arg Leu Phe Phe Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe
85          90          95
Glu Met Val His Leu Lys Glu Leu Gly Leu Tyr Asn Leu Met Asn Ile
100         105         110
Thr Arg Gly Ser Val Arg Ile Glu Lys Asn Asn Glu Leu Cys Tyr Leu
115         120         125
Ala Thr Ile Asp Trp Ser Arg Ile Leu Asp Ser Val Glu Asp Asn Tyr
130         135         140
Ile Val Leu Asn Lys Asp Asp Asn Glu Glu Cys Gly Asp Ile Cys Pro
145         150         155         160
Gly Thr Ala Lys Gly Lys Thr Asn Cys Pro Ala Thr Val Ile Asn Gly
165         170         175
Gln Phe Val Glu Arg Cys Trp Thr His Ser His Cys Gln Lys Val Cys
180         185         190
Pro Thr Ile Cys Lys Ser His Gly Cys Thr Ala Glu Gly Leu Cys Cys
195         200         205

```

His	Ser	Glu	Cys	Leu	Gly	Asn	Cys	Ser	Gln	Pro	Asp	Asp	Pro	Thr	Lys
210						215					220				
Cys	Val	Ala	Cys	Arg	Asn	Phe	Tyr	Leu	Asp	Gly	Arg	Cys	Val	Glu	Thr
225					230					235					240
Cys	Pro	Pro	Pro	Tyr	Tyr	His	Phe	Gln	Asp	Trp	Arg	Cys	Val	Asn	Phe
				245					250					255	
Ser	Phe	Cys	Gln	Asp	Leu	His	His	Lys	Cys	Lys	Asn	Ser	Arg	Arg	Gln
			260					265					270		
Gly	Cys	His	Gln	Tyr	Val	Ile	His	Asn	Asn	Lys	Cys	Ile	Pro	Glu	Cys
		275					280					285			
Pro	Ser	Gly	Tyr	Thr	Met	Asn	Ser	Ser	Asn	Leu	Leu	Cys	Thr	Pro	Cys
	290					295						300			
Leu	Gly	Pro	Cys	Pro	Lys	Val	Cys	His	Leu	Leu	Glu	Gly	Glu	Lys	Thr
305					310						315				320
Ile	Asp	Ser	Val	Thr	Ser	Ala	Gln	Glu	Leu	Arg	Gly	Cys	Thr	Val	Ile
				325						330				335	
Asn	Gly	Ser	Leu	Ile	Ile	Asn	Ile	Arg	Gly	Gly	Asn	Asn	Leu	Ala	Ala
			340					345					350		
Glu	Leu	Glu	Ala	Asn	Leu	Gly	Leu	Ile	Glu	Glu	Ile	Ser	Gly	Tyr	Leu
		355					360					365			
Lys	Ile	Arg	Arg	Ser	Tyr	Ala	Leu	Val	Ser	Leu	Ser	Phe	Phe	Arg	Lys
	370					375						380			
Leu	Arg	Leu	Ile	Arg	Gly	Glu	Thr	Leu	Glu	Ile	Gly	Asn	Tyr	Ser	Phe
385					390					395					400
Tyr	Ala	Leu	Asp	Asn	Gln	Asn	Leu	Arg	Gln	Leu	Trp	Asp	Trp	Ser	Lys
				405					410					415	
His	Asn	Leu	Thr	Ile	Thr	Gln	Gly	Lys	Leu	Phe	Phe	His	Tyr	Asn	Pro
			420					425					430		
Lys	Leu	Cys	Leu	Ser	Glu	Ile	His	Lys	Met	Glu	Glu	Val	Ser	Gly	Thr
		435					440					445			
Lys	Gly	Arg	Gln	Glu	Arg	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu	Lys	Thr	Asn	Gly	Asp
	450					455					460				
Gln	Ala	Ser	Cys	Glu	Asn	Glu	Leu	Leu	Lys	Phe	Ser	Tyr	Ile	Arg	Thr
465					470					475					480
Ser	Phe	Asp	Lys	Ile	Leu	Leu	Arg	Trp	Glu	Pro	Tyr	Trp	Pro	Pro	Asp
				485					490					495	
Phe	Arg	Asp	Leu	Leu	Gly	Phe	Met	Leu	Phe	Tyr	Lys	Glu	Ala	Pro	Tyr
			500					505					510		
Gln	Asn	Val	Thr	Glu	Phe	Asp	Gly	Gln	Asp	Ala	Cys	Gly	Ser	Asn	Ser
		515					520					525			
Trp	Thr	Val	Val	Asp	Ile	Asp	Pro	Pro	Leu	Arg	Ser	Asn	Asp	Pro	Lys
	530					535					540				
Ser	Gln	Asn	His	Pro	Gly	Trp	Leu	Met	Arg	Gly	Leu	Lys	Pro	Trp	Thr
545					550					555					560
Gln	Tyr														

```

        690                695                700
Phe Glu Asp Tyr Leu His Asn Val Val Phe Val Pro Arg Lys Thr Ser
705                710                715                720
Ser Gly Thr Gly Ala Glu Asp Pro Arg Pro Ser Arg Lys Arg Arg
                725                730                735

```

```

<210> 2
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> NGUỒN
<222> 1..14
<223> /mol_type="protein"
      /sinh vật="Homo sapiens"

```

```

<400> 2

```

```

Leu Gly Leu Tyr Asn Leu Met Asn Ile Thr Arg Gly Ser Val
1                5                10

```

```

<210> 3
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> NGUỒN
<222> 1..13
<223> /mol_type="protein"
      /sinh vật="Homo sapiens"

```

```

<400> 3

```

```

Lys Gly Lys Thr Asn Cys Pro Ala Thr Val Ile Asn Gly
1                5                10

```

```

<210> 4
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> NGUỒN
<222> 1..13
<223> /mol_type="protein"
      /sinh vật="Homo sapiens"

```

```

<400> 4

```

```

Trp Ser Lys His Asn Leu Thr Ile Thr Gln Gly Lys Leu
1                5                10

```

```

<210> 5
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> NGUỒN

```

<222> 1..20
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Homo sapiens"

<400> 5

Asn	Val	Thr	Glu	Phe	Asp	Gly	Gln	Asp	Ala	Cys	Gly	Ser	Asn	Ser	Trp
1				5					10					15	
Thr	Val	Val	Asp												
			20												

<210> 6
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..10
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Homo sapiens"

<400> 6

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

<210> 7
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..18
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Homo sapiens"

<400> 7

Tyr	Glu	Asp	Ser	Ala	Gly	Glu	Cys	Cys	Ser	Cys	Pro	Lys	Thr	Asp	Ser
1				5					10					15	
Gln	Ile														

<210> 8
 <211> 620
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..620
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Homo sapiens"

<400> 8

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

			20					25					30		
His	Arg	Pro	Phe	Glu	Lys	Val	Val	Asn	Lys	Glu	Ser	Leu	Val	Ile	Ser
		35					40					45			
Gly	Leu	Arg	His	Phe	Thr	Gly	Tyr	Arg	Ile	Glu	Leu	Gln	Ala	Cys	Asn
	50					55				60					
Gln	Asp	Thr	Pro	Glu	Glu	Arg	Cys	Ser	Val	Ala	Ala	Tyr	Val	Ser	Ala
65					70					75					80
Arg	Thr	Met	Pro	Glu	Ala	Lys	Ala	Asp	Asp	Ile	Val	Gly	Pro	Val	Thr
				85					90					95	
His	Glu	Ile	Phe	Glu	Asn	Asn	Val	Val	His	Leu	Met	Trp	Gln	Glu	Pro
			100					105					110		
Lys	Glu	Pro	Asn	Gly	Leu	Ile	Val	Leu	Tyr	Glu	Val	Ser	Tyr	Arg	Arg
		115					120					125			
Tyr	Gly	Asp	Glu	Glu	Leu	His	Leu	Cys	Val	Ser	Arg	Lys	His	Phe	Ala
	130					135					140				
Leu	Glu	Arg	Gly	Cys	Arg	Leu	Arg	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly	Asn	Tyr	Ser
145					150					155					160
Val	Arg	Ile	Arg	Ala	Thr	Ser	Leu	Ala	Gly	Asn	Gly	Ser	Trp	Thr	Glu
				165					170					175	
Pro	Thr	Tyr	Phe	Tyr	Val	Thr	Asp	Tyr	Leu	Asp	Val	Pro	Ser	Asn	Ile
			180					185					190		
Ala	Lys	Ile	Ile	Ile	Gly	Pro	Leu	Ile	Phe	Val	Phe	Leu	Phe	Ser	Val
		195					200					205			
Val	Ile	Gly	Ser	Ile	Tyr	Leu	Phe	Leu	Arg	Lys	Arg	Gln	Pro	Asp	Gly
	210					215					220				
Pro	Leu	Gly	Pro	Leu	Tyr	Ala	Ser	Ser	Asn	Pro	Glu	Tyr	Leu	Ser	Ala
225					230					235					240
Ser	Asp	Val	Phe	Pro	Cys	Ser	Val	Tyr	Val	Pro	Asp	Glu	Trp	Glu	Val
				245					250					255	
Ser	Arg	Glu	Lys	Ile	Thr	Leu	Leu	Arg	Glu	Leu	Gly	Gln	Gly	Ser	Phe
			260					265				270			
Gly	Met	Val	Tyr	Glu	Gly	Asn	Ala	Arg	Asp	Ile	Ile	Lys	Gly	Glu	Ala
		275					280					285			
Glu	Thr	Arg	Val	Ala	Val	Lys	Thr	Val	Asn	Glu	Ser	Ala	Ser	Leu	Arg
	290					295					300				
Glu	Arg	Ile	Glu	Phe	Leu	Asn	Glu	Ala	Ser	Val	Met	Lys	Gly	Phe	Thr
305					310					315					320
Cys	His	His	Val	Val	Arg	Leu	Leu	Gly	Val	Val	Ser	Lys	Gly	Gln	Pro
			325						330					335	
Thr	Leu	Val	Val	Met	Glu	Leu	Met	Ala	His	Gly	Asp	Leu	Lys	Ser	Tyr
			340					345				350			
Leu	Arg	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Glu	Asn	Asn	Pro	Gly	Arg	Pro	Pro
		355					360					365			
Pro	Thr	Leu	Gln	Glu	Met	Ile	Gln	Met	Ala	Ala	Glu	Ile	Ala	Asp	Gly
	370					375									

```

Phe Asn Pro Lys Met Arg Pro Thr Phe Leu Glu Ile Val Asn Leu Leu
      515                      520                      525
Lys Asp Asp Leu His Pro Ser Phe Pro Glu Val Ser Phe Phe His Ser
      530                      535                      540
Glu Glu Asn Lys Ala Pro Glu Ser Glu Glu Leu Glu Met Glu Phe Glu
545                      550                      555                      560
Asp Met Glu Asn Val Pro Leu Asp Arg Ser Ser His Cys Gln Arg Glu
      565                      570                      575
Glu Ala Gly Gly Arg Asp Gly Gly Ser Ser Leu Gly Phe Lys Arg Ser
      580                      585                      590
Tyr Glu Glu His Ile Pro Tyr Thr His Met Asn Gly Gly Lys Lys Asn
      595                      600                      605
Gly Arg Ile Leu Thr Leu Pro Arg Ser Asn Pro Ser
      610                      615                      620

```

```

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> NGUỒN
<222> 1..10
<223> /mol_type="protein"
      /sinh vật="Homo sapiens"

```

```

<400> 9

```

```

Lys Lys Asn Gly Arg Ile Leu Thr Leu Pro
1                      5                      10

```

```

<210> 10
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> NGUỒN
<222> 1..11
<223> /mol_type="protein"
      /sinh vật="Homo sapiens"

```

```

<400> 10

```

```

Arg Ile Leu Thr Leu Pro Arg Ser Asn Pro Ser
1                      5                      10

```

```

<210> 11
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> NGUỒN
<222> 1..7
<223> /mol_type="protein"
      /sinh vật="Homo sapiens"

```

```

<400> 11

```

```

Lys Asn Gly Arg Ile Leu Thr

```

1

5

<210> 12
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..17
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Homo sapiens"

<400> 12

Gly	Gly	Lys	Lys	Asn	Gly	Arg	Ile	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ser	Asn	Pro
1				5					10					15	
Ser															

<210> 13
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..18
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Homo sapiens"

<400> 13

Asn	Gly	Gly	Lys	Lys	Asn	Gly	Arg	Ile	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ser	Asn
1				5					10					15	
Pro	Ser														

<210> 14
 <211> 1382
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..1382
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Homo sapiens"

<400> 14

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

```

Leu Ile Met Ile Thr Asp Tyr Leu Leu Leu Phe Arg Val Tyr Gly Leu
      85                      90                      95
Glu Ser Leu Lys Asp Leu Phe Pro Asn Leu Thr Val Ile Arg Gly Ser
      100                    105                    110
Arg Leu Phe Phe Asn Tyr Ala Leu Val Ile Phe Glu Met Val His Leu
      115                    120                    125
Lys Glu Leu Gly Leu Tyr Asn Leu Met Asn Ile Thr Arg Gly Ser Val
      130                    135                    140
Arg Ile Glu Lys Asn Asn Glu Leu Cys Tyr Leu Ala Thr Ile Asp Trp
      145                    150                    155                    160
Ser Arg Ile Leu Asp Ser Val Glu Asp Asn Tyr Ile Val Leu Asn Lys
      165                    170                    175
Asp Asp Asn Glu Glu Cys Gly Asp Ile Cys Pro Gly Thr Ala Lys Gly
      180                    185                    190
Lys Thr Asn Cys Pro Ala Thr Val Ile Asn Gly Gln Phe Val Glu Arg
      195                    200                    205
Cys Trp Thr His Ser His Cys Gln Lys Val Cys Pro Thr Ile Cys Lys
      210                    215                    220
Ser His Gly Cys Thr Ala Glu Gly Leu Cys Cys His Ser Glu Cys Leu
      225                    230                    235                    240
Gly Asn Cys Ser Gln Pro Asp Asp Pro Thr Lys Cys Val Ala Cys Arg
      245                    250                    255
Asn Phe Tyr Leu Asp Gly Arg Cys Val Glu Thr Cys Pro Pro Pro Tyr
      260                    265                    270
Tyr His Phe Gln Asp Trp Arg Cys Val Asn Phe Ser Phe Cys Gln Asp
      275                    280                    285
Leu His His Lys Cys Lys Asn Ser Arg Arg Gln Gly Cys His Gln Tyr
      290                    295                    300
Val Ile His Asn Asn Lys Cys Ile Pro Glu Cys Pro Ser Gly Tyr Thr
      305                    310                    315                    320
Met Asn Ser Ser Asn Leu Leu Cys Thr Pro Cys Leu Gly Pro Cys Pro
      325                    330                    335
Lys Val Cys His Leu Leu Glu Gly Glu Lys Thr Ile Asp Ser Val Thr
      340                    345                    350
Ser Ala Gln Glu Leu Arg Gly Cys Thr Val Ile Asn Gly Ser Leu Ile
      355                    360                    365
Ile Asn Ile Arg Gly Gly Asn Asn Leu Ala Ala Glu Leu Glu Ala Asn
      370                    375                    380
Leu Gly Leu Ile Glu Glu Ile Ser Gly Tyr Leu Lys Ile Arg Arg Ser
      385                    390                    395                    400
Tyr Ala Leu Val Ser Leu Ser Phe Phe Arg Lys Leu Arg Leu Ile Arg
      405                    410                    415
Gly Glu Thr Leu Glu Ile Gly Asn Tyr Ser Phe Tyr Ala Leu Asp Asn
      420                    425                    430
Gln Asn Leu Arg Gln Leu Trp Asp Trp Ser Lys His Asn Leu Thr Ile
      435                    440                    445
Thr Gln Gly Lys Leu Phe Phe His Tyr Asn Pro Lys Leu Cys Leu Ser
      450                    455                    460
Glu Ile His Lys Met Glu Glu Val Ser Gly Thr Lys Gly Arg Gln Glu
      465                    470                    475                    480
Arg Asn Asp Ile Ala Leu Lys Thr Asn Gly Asp Gln Ala Ser Cys Glu
      485                    490                    495
Asn Glu Leu Leu Lys Phe Ser Tyr Ile Arg Thr Ser Phe Asp Lys Ile
      500                    505                    510
Leu Leu Arg Trp Glu Pro Tyr Trp Pro Pro Asp Phe Arg Asp Leu Leu
      515                    520                    525
Gly Phe Met Leu Phe Tyr Lys Glu Ala Pro Tyr Gln Asn Val Thr Glu
      530                    535                    540
Phe Asp Gly Gln Asp Ala Cys Gly Ser Asn Ser Trp Thr Val Val Asp
      545                    550                    555                    560
Ile Asp Pro Pro Leu Arg Ser Asn Asp Pro Lys Ser Gln Asn His Pro

```

				565					570					575					
Gly	Trp	Leu	Met	Arg	Gly	Leu	Lys	Pro	Trp	Thr	Gln	Tyr	Ala	Ile	Phe				
				580					585					590					
Val	Lys	Thr	Leu	Val	Thr	Phe	Ser	Asp	Glu	Arg	Arg	Thr	Tyr	Gly	Ala				
				595					600					605					
Lys	Ser	Asp	Ile	Ile	Tyr	Val	Gln	Thr	Asp	Ala	Thr	Asn	Pro	Ser	Val				
				610					615					620					
Pro	Leu	Asp	Pro	Ile	Ser	Val	Ser	Asn	Ser	Ser	Ser	Gln	Ile	Ile	Leu				
625					630					635					640				
Lys	Trp	Lys	Pro	Pro	Ser	Asp	Pro	Asn	Gly	Asn	Ile	Thr	His	Tyr	Leu				
				645					650					655					
Val	Phe	Trp	Glu	Arg	Gln	Ala	Glu	Asp	Ser	Glu	Leu	Phe	Glu	Leu	Asp				
				660					665					670					
Tyr	Cys	Leu	Lys	Gly	Leu	Lys	Leu	Pro	Ser	Arg	Thr	Trp	Ser	Pro	Pro				
				675					680					685					
Phe	Glu	Ser	Glu	Asp	Ser	Gln	Lys	His	Asn	Gln	Ser	Glu	Tyr	Glu	Asp				
				690					695					700					
Ser	Ala	Gly	Glu	Cys	Cys	Ser	Cys	Pro	Lys	Thr	Asp	Ser	Gln	Ile	Leu				
705					710					715					720				
Lys	Glu	Leu	Glu	Glu	Ser	Ser	Phe	Arg	Lys	Thr	Phe	Glu	Asp	Tyr	Leu				
				725					730					735					
His	Asn	Val	Val	Phe	Val	Pro	Arg	Lys	Thr	Ser	Ser	Gly	Thr	Gly	Ala				
				740					745					750					
Glu	Asp	Pro	Arg	Pro	Ser	Arg	Lys	Arg	Arg	Ser	Leu	Gly	Asp	Val	Gly				
				755					760					765					
Asn	Val	Thr	Val	Ala	Val	Pro	Thr	Val	Ala	Ala	Phe	Pro	Asn	Thr	Ser				
				770					775					780					
Ser	Thr	Ser	Val	Pro	Thr	Ser	Pro	Glu	Glu	His	Arg	Pro	Phe	Glu	Lys				
785					790					795					800				
Val	Val	Asn	Lys	Glu	Ser	Leu	Val	Ile	Ser	Gly	Leu	Arg	His	Phe	Thr				
				805					810					815					
Gly	Tyr	Arg	Ile	Glu	Leu	Gln	Ala	Cys	Asn	Gln	Asp	Thr	Pro	Glu	Glu				
				820					825					830					
Arg	Cys	Ser	Val	Ala	Ala	Tyr	Val	Ser	Ala	Arg	Thr	Met	Pro	Glu	Ala				
				835					840					845					
Lys	Ala	Asp	Asp	Ile	Val	Gly	Pro	Val	Thr	His	Glu	Ile	Phe	Glu	Asn				
				850					855					860					
Asn	Val	Val	His	Leu	Met	Trp	Gln	Glu	Pro	Lys	Glu	Pro	Asn	Gly	Leu				
865					870					875					880				
Ile	Val	Leu	Tyr	Glu	Val	Ser	Tyr	Arg	Arg	Tyr	Gly	Asp	Glu	Glu	Leu				
				885					890					895					
His	Leu	Cys	Val	Ser	Arg	Lys	His	Phe	Ala	Leu	Glu	Arg	Gly	Cys	Arg				
				900					905					910					
Leu	Arg	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly	Asn	Tyr	Ser	Val	Arg	Ile	Arg	Ala	Thr				
				915					920					925					
Ser	Leu	Ala	Gly	Asn	Gly	Ser	Trp	Thr	Glu	Pro	Thr	Tyr	Phe	Tyr	Val				
				930					935					940					
Thr	Asp	Tyr	Leu	Asp	Val	Pro	Ser	Asn	Ile	Ala	Lys	Ile	Ile	Ile	Gly				
945					950					955					960				

```

Lys Thr Val Asn Glu Ser Ala Ser Leu Arg Glu Arg Ile Glu Phe Leu
      1060                      1065                      1070
Asn Glu Ala Ser Val Met Lys Gly Phe Thr Cys His His Val Val Arg
      1075                      1080                      1085
Leu Leu Gly Val Val Ser Lys Gly Gln Pro Thr Leu Val Val Met Glu
      1090                      1095                      1100
Leu Met Ala His Gly Asp Leu Lys Ser Tyr Leu Arg Ser Leu Arg Pro
1105                      1110                      1115                      1120
Glu Ala Glu Asn Asn Pro Gly Arg Pro Pro Pro Thr Leu Gln Glu Met
      1125                      1130                      1135
Ile Gln Met Ala Ala Glu Ile Ala Asp Gly Met Ala Tyr Leu Asn Ala
      1140                      1145                      1150
Lys Lys Phe Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Cys Met Val Ala
      1155                      1160                      1165
His Asp Phe Thr Val Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Thr Arg Asp Ile
      1170                      1175                      1180
Tyr Glu Thr Asp Tyr Tyr Arg Lys Gly Gly Lys Gly Leu Leu Pro Val
1185                      1190                      1195                      1200
Arg Trp Met Ala Pro Glu Ser Leu Lys Asp Gly Val Phe Thr Thr Ser
      1205                      1210                      1215
Ser Asp Met Trp Ser Phe Gly Val Val Leu Trp Glu Ile Thr Ser Leu
      1220                      1225                      1230
Ala Glu Gln Pro Tyr Gln Gly Leu Ser Asn Glu Gln Val Leu Lys Phe
      1235                      1240                      1245
Val Met Asp Gly Gly Tyr Leu Asp Gln Pro Asp Asn Cys Pro Glu Arg
      1250                      1255                      1260
Val Thr Asp Leu Met Arg Met Cys Trp Gln Phe Asn Pro Lys Met Arg
1265                      1270                      1275                      1280
Pro Thr Phe Leu Glu Ile Val Asn Leu Leu Lys Asp Asp Leu His Pro
      1285                      1290                      1295
Ser Phe Pro Glu Val Ser Phe Phe His Ser Glu Glu Asn Lys Ala Pro
      1300                      1305                      1310
Glu Ser Glu Glu Leu Glu Met Glu Phe Glu Asp Met Glu Asn Val Pro
      1315                      1320                      1325
Leu Asp Arg Ser Ser His Cys Gln Arg Glu Glu Ala Gly Gly Arg Asp
1330                      1335                      1340
Gly Gly Ser Ser Leu Gly Phe Lys Arg Ser Tyr Glu Glu His Ile Pro
1345                      1350                      1355                      1360
Tyr Thr His Met Asn Gly Gly Lys Lys Asn Gly Arg Ile Leu Thr Leu
      1365                      1370                      1375
Pro Arg Ser Asn Pro Ser
      1380

```

```

<210> 15
<211> 1205
<212> PRT
<213> Bos taurus

```

```

<220>
<221> NGUỒN
<222> 1..1205
<223> /mol_type="protein"
      /sinh vật="Bos taurus"

```

```

<400> 15

```

```

Met Gly Asn Leu Lys Ser Val Gly Gln Glu Pro Gly Pro Pro Cys Gly
1      5      10      15
Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Cys Gly Lys Gln Gly Pro Ala
      20      25      30
Ser Pro Ala Pro Glu Pro Ser Arg Ala Pro Ala Pro Ala Thr Pro His

```

		35					40					45			
Ala	Pro	Asp	His	Ser	Pro	Ala	Pro	Asn	Ser	Pro	Thr	Leu	Thr	Arg	Pro
	50					55					60				
Pro	Glu	Gly	Pro	Lys	Phe	Pro	Arg	Val	Lys	Asn	Trp	Glu	Leu	Gly	Ser
65					70					75					80
Ile	Thr	Tyr	Asp	Thr	Leu	Cys	Ala	Gln	Ser	Gln	Gln	Asp	Gly	Pro	Cys
				85					90					95	
Thr	Pro	Arg	Cys	Cys	Leu	Gly	Ser	Leu	Val	Leu	Pro	Arg	Lys	Leu	Gln
			100					105					110		
Thr	Arg	Pro	Ser	Pro	Gly	Pro	Pro	Pro	Ala	Glu	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln
		115					120					125			
Ala	Arg	Asp	Phe	Ile	Asn	Gln	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Ile	Lys	Arg	Ser	Gly
	130					135					140				
Ser	Gln	Ala	His	Glu	Glu	Arg	Leu	Gln	Glu	Val	Glu	Ala	Glu	Val	Ala
145					150					155					160
Ser	Thr	Gly	Thr	Tyr	His	Leu	Arg	Glu	Ser	Glu	Leu	Val	Phe	Gly	Ala
				165					170					175	
Lys	Gln	Ala	Trp	Arg	Asn	Ala	Pro	Arg	Cys	Val	Gly	Arg	Ile	Gln	Trp
			180					185					190		
Gly	Lys	Leu	Gln	Val	Phe	Asp	Ala	Arg	Asp	Cys	Ser	Ser	Ala	Gln	Glu
		195					200					205			
Met	Phe	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	His	Ile	Lys	Tyr	Ala	Thr	Asn	Arg	Gly
	210					215					220				
Asn	Leu	Arg	Ser	Ala	Ile	Thr	Val	Phe	Pro	Gln	Arg	Ala	Pro	Gly	Arg
225					230					235					240
Gly	Asp	Phe	Arg	Ile	Trp	Asn	Ser	Gln	Leu	Val	Arg	Tyr	Ala	Gly	Tyr
				245					250					255	
Arg	Gln	Gln	Asp	Gly	Ser	Val	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Asn	Val	Glu	Ile
			260					265					270		
Thr	Glu	Leu	Cys	Ile	Gln	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Gly	Asn	Gly	Arg	Phe
		275				280						285			
Asp	Val	Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Asp	Glu	Ala	Pro	Glu	Leu
	290					295					300				
Phe	Val	Leu	Pro	Pro	Glu	Leu	Val	Leu	Glu	Val	Pro	Leu	Glu	His	Pro
305					310					315					320
Thr	Leu	Glu	Trp	Phe	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu	Arg	Trp	Tyr	Ala	Leu	Pro
				325					330					335	
Ala	Val	Ser	Asn	Met	Leu	Leu	Glu	Ile	Gly	Gly	Leu	Glu	Phe	Ser	Ala
			340					345					350		
Ala	Pro	Phe	Ser	Gly	Trp	Tyr	Met	Ser	Thr	Glu	Ile	Gly	Thr	Arg	Asn
		355					360					365			
Leu	Cys	Asp	Pro	His	Arg	Tyr	Asn	Ile	Leu	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Cys
	370					375					380				
Met	Asp	Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Trp	Lys	Asp	Lys	Ala
385					3										

Glu Thr Gly Arg Ala Gln Ser Tyr Ala Gln Gln Leu Gly Arg Leu Phe
 530 535 540
 Arg Lys Ala Phe Asp Pro Arg Val Leu Cys Met Asp Glu Tyr Asp Val
 545 550 555 560
 Val Ser Leu Glu His Glu Ala Leu Val Leu Val Val Thr Ser Thr Phe
 565 570 575
 Gly Asn Gly Asp Pro Pro Glu Asn Gly Glu Ser Phe Ala Ala Ala Leu
 580 585 590
 Met Glu Met Ser Gly Pro Tyr Asn Ser Ser Pro Arg Pro Glu Gln His
 595 600 605
 Lys Ser Tyr Lys Ile Arg Phe Asn Ser Val Ser Cys Ser Asp Pro Leu
 610 615 620
 Val Ser Ser Trp Arg Arg Lys Arg Lys Glu Ser Ser Asn Thr Asp Ser
 625 630 635 640
 Ala Gly Ala Leu Gly Thr Leu Arg Phe Cys Val Phe Gly Leu Gly Ser
 645 650 655
 Arg Ala Tyr Pro His Phe Cys Ala Phe Ala Arg Ala Val Asp Thr Arg
 660 665 670
 Leu Glu Glu Leu Gly Gly Glu Arg Leu Leu Gln Leu Gly Gln Gly Asp
 675 680 685
 Glu Leu Cys Gly Gln Glu Glu Ala Phe Arg Gly Trp Ala Lys Ala Ala
 690 695 700
 Phe Gln Ala Ser Cys Glu Thr Phe Cys Val Gly Glu Glu Ala Lys Ala
 705 710 715 720
 Ala Ala Gln Asp Ile Phe Ser Pro Lys Arg Ser Trp Lys Arg Gln Arg
 725 730 735
 Tyr Arg Leu Ser Thr Gln Ala Glu Gly Leu Gln Leu Leu Pro Gly Leu
 740 745 750
 Ile His Val His Arg Arg Lys Met Phe Gln Ala Thr Val Leu Ser Val
 755 760 765
 Glu Asn Leu Gln Ser Ser Lys Ser Thr Arg Ala Thr Ile Leu Val Arg
 770 775 780
 Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Gly Leu Gln Tyr Gln Pro Gly Asp His
 785 790 795 800
 Ile Gly Ile Cys Pro Pro Asn Arg Pro Gly Leu Val Glu Ala Leu Leu
 805 810 815
 Ser Arg Val Glu Asp Pro Pro Pro Pro Thr Glu Ser Val Ala Val Glu
 820 825 830
 Gln Leu Glu Lys Gly Ser Pro Gly Gly Pro Pro Pro Ser Trp Val Arg
 835 840 845
 Asp Pro Arg Leu Pro Pro Cys Thr Leu Arg Gln Ala Leu Thr Phe Phe
 850 855 860
 Leu Asp Ile Thr Ser Pro Pro Ser Pro Arg Leu Leu Arg Leu Leu Ser
 865 870 875 880
 Thr Leu Ala Glu Glu Pro Ser Glu Gln Gln Glu Leu Glu Thr Leu Ser
 885 890 895
 Gln Asp Pro Arg Arg Tyr Glu Glu Trp Lys Trp Phe Arg Cys Pro Thr
 900 905 910
 Leu Leu Glu Val Leu Glu Gln Phe Pro Ser Val Ala Leu Pro Ala Pro
 915 920 925
 Leu Leu Leu Thr Gln Leu Pro Leu Leu Gln Pro Arg Tyr Tyr Ser Val
 930 935 940
 Ser Ser Ala Pro Asn Ala His Pro Gly Glu Val His Leu Thr Val Ala
 945 950 955 960
 Val Leu Ala Tyr Arg Thr Gln Asp Gly Leu Gly Pro Leu His Tyr Gly
 965 970 975
 Val Cys Ser Thr Trp Leu Ser Gln Leu Lys Thr Gly Asp Pro Val Pro
 980 985 990
 Cys Phe Ile Arg Gly Ala Pro Ser Phe Arg Leu Pro Pro Asp Pro Tyr
 995 1000 1005
 Val Pro Cys Ile Leu Val Gly Pro Gly Thr Gly Ile Ala Pro Phe Arg

```

      1010              1015              1020
Gly Phe Trp Gln Glu Arg Leu His Asp Ile Glu Ser Lys Gly Leu Gln
1025              1030              1035              1040
Pro Ala Pro Met Thr Leu Val Phe Gly Cys Arg Cys Ser Gln Leu Asp
      1045              1050              1055
His Leu Tyr Arg Asp Glu Val Gln Asp Ala Gln Glu Arg Gly Val Phe
      1060              1065              1070
Gly Arg Val Leu Thr Ala Phe Ser Arg Glu Pro Asp Ser Pro Lys Thr
      1075              1080              1085
Tyr Val Gln Asp Ile Leu Arg Thr Glu Leu Ala Ala Glu Val His Arg
      1090              1095              1100
Val Leu Cys Leu Glu Arg Gly His Met Phe Val Cys Gly Asp Val Thr
1105              1110              1115              1120
Met Ala Thr Ser Val Leu Gln Thr Val Gln Arg Ile Leu Ala Thr Glu
      1125              1130              1135
Gly Asp Met Glu Leu Asp Glu Ala Gly Asp Val Ile Gly Val Leu Arg
      1140              1145              1150
Asp Gln Gln Arg Tyr His Glu Asp Ile Phe Gly Leu Thr Leu Arg Thr
      1155              1160              1165
Gln Glu Val Thr Ser Arg Ile Arg Thr Gln Ser Phe Ser Leu Gln Glu
      1170              1175              1180
Arg His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro
1185              1190              1195              1200
Asp Thr Pro Gly Pro
      1205

```

```

<210> 16
<211> 1203
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<221> NGUỒN
<222> 1..1203
<223> /mol_type="protein"
      /sinh vật="Homo sapiens"

```

```

<400> 16

```

```

Met Gly Asn Leu Lys Ser Val Ala Gln Glu Pro Gly Pro Pro Cys Gly
1      5      10      15
Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Gly Leu Cys Gly Lys Gln Gly Pro Ala
      20      25      30
Thr Pro Ala Pro Glu Pro Ser Arg Ala Pro Ala Ser Leu Leu Pro Pro
      35      40      45
Ala Pro Glu His Ser Pro Pro Ser Ser Pro Leu Thr Gln Pro Pro Glu
      50      55      60
Gly Pro Lys Phe Pro Arg Val Lys Asn Trp Glu Val Gly Ser Ile Thr
65      70      75      80
Tyr Asp Thr Leu Ser Ala Gln Ala Gln Gln Asp Gly Pro Cys Thr Pro
      85      90      95
Arg Arg Cys Leu Gly Ser Leu Val Phe Pro Arg Lys Leu Gln Gly Arg
      100      105      110
Pro Ser Pro Gly Pro Pro Ala Pro Glu Gln Leu Leu Ser Gln Ala Arg
      115      120      125
Asp Phe Ile Asn Gln Tyr Tyr Ser Ser Ile Lys Arg Ser Gly Ser Gln
      130      135      140
Ala His Glu Gln Arg Leu Gln Glu Val Glu Ala Glu Val Ala Ala Thr
145      150      155      160
Gly Thr Tyr Gln Leu Arg Glu Ser Glu Leu Val Phe Gly Ala Lys Gln
      165      170      175

```

Ala	Trp	Arg	Asn	Ala	Pro	Arg	Cys	Val	Gly	Arg	Ile	Gln	Trp	Gly	Lys		
			180					185					190				
Leu	Gln	Val	Phe	Asp	Ala	Arg	Asp	Cys	Arg	Ser	Ala	Gln	Glu	Met	Phe		
		195					200					205					
Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	His	Ile	Lys	Tyr	Ala	Thr	Asn	Arg	Gly	Asn	Leu		
	210					215					220						
Arg	Ser	Ala	Ile	Thr	Val	Phe	Pro	Gln	Arg	Cys	Pro	Gly	Arg	Gly	Asp		
225					230					235					240		
Phe	Arg	Ile	Trp	Asn	Ser	Gln	Leu	Val	Arg	Tyr	Ala	Gly	Tyr	Arg	Gln		
				245					250					255			
Gln	Asp	Gly	Ser	Val	Arg	Gly	Asp	Pro	Ala	Asn	Val	Glu	Ile	Thr	Glu		
			260					265					270				
Leu	Cys	Ile	Gln	His	Gly	Trp	Thr	Pro	Gly	Asn	Gly	Arg	Phe	Asp	Val		
		275					280					285					
Leu	Pro	Leu	Leu	Leu	Gln	Ala	Pro	Asp	Glu	Pro	Pro	Glu	Leu	Phe	Leu		
	290					295					300						
Leu	Pro	Pro	Glu	Leu	Val	Leu	Glu	Val	Pro	Leu	Glu	His	Pro	Thr	Leu		
305					310					315					320		
Glu	Trp	Phe	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu	Arg	Trp	Tyr	Ala	Leu	Pro	Ala	Val		
				325					330					335			
Ser	Asn	Met	Leu	Leu	Glu	Ile	Gly	Gly	Leu	Glu	Phe	Pro	Ala	Ala	Pro		
			340					345					350				
Phe	Ser	Gly	Trp	Tyr	Met	Ser	Thr	Glu	Ile	Gly	Thr	Arg	Asn	Leu	Cys		
		355					360					365					
Asp	Pro	His	Arg	Tyr	Asn	Ile	Leu	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Cys	Met	Asp		
	370					375					380						
Leu	Asp	Thr	Arg	Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Trp	Lys	Asp	Lys	Ala	Ala	Val		
385					390					395					400		
Glu	Ile	Asn	Val	Ala	Val	Leu	His	Ser	Tyr	Gln	Leu	Ala	Lys	Val	Thr		
				405						410				415			
Ile	Val	Asp	His	His	Ala	Ala	Thr	Ala	Ser	Phe	Met	Lys	His	Leu	Glu		
			420					425					430				
Asn	Glu	Gln	Lys	Ala	Arg	Gly	Gly	Cys	Pro	Ala	Asp	Trp	Ala	Trp	Ile		
		435					440					445					
Val	Pro	Pro	Ile	Ser	Gly	Ser	Leu	Thr	Pro	Val	Phe	His	Gln	Glu	Met		
	450					455					460						
Val	Asn	Tyr	Phe	Leu	Ser	Pro	Ala	Phe	Arg	Tyr	Gln	Pro	Asp	Pro	Trp		
465					470					475					480		
Lys	Gly	Ser	Ala	Ala	Lys	Gly	Thr	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	Lys	Thr	Phe		
				485					490					495			
Lys	Glu	Val	Ala	Asn	Ala	Val	Lys	Ile	Ser	Ala	Ser	Leu	Met	Gly	Thr		
			500					505					510				
Val	Met	Ala	Lys	Arg	Val	Lys	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Gly	Ser	Glu	Thr		
	515						520					525					
Gly	Arg	Ala	Gln	Ser	Tyr	Ala	Gln	Gln	Leu	Gly	Arg	Leu	Phe	Arg	Lys		
	530					535					540						
Ala	Phe	Asp	Pro	Arg	Val	Leu	Cys	Met	Asp	Glu	Tyr	Asp	Val	Val	Ser		
545					550					555					560		
Leu	Glu	His	Glu	Thr	Leu	Val	Leu	Val	Val	Thr	Ser	Thr	Phe	Gly	Asn		
				565					570					575			
Gly	Asp	Pro	Pro	Glu	Asn	Gly	Glu	Ser	Phe	Ala	Ala	Ala	Leu	Met	Glu		
			580					585					590				
Met	Ser	Gly	Pro	Tyr	Asn	Ser	Ser	Pro	Arg	Pro	Glu	Gln	His	Lys	Ser		
	595						600					605					
Tyr	Lys	Ile	Arg	Phe	Asn	Ser	Ile	Ser	Cys	Ser	Asp	Pro	Leu	Val	Ser		
	610					615					620						
Ser	Trp	Arg	Arg	Lys	Arg	Lys	Glu	Ser	Ser	Asn	Thr	Asp	Ser	Ala	Gly		
625					630					635					640		
Ala	Leu	Gly	Thr	Leu	Arg	Phe	Cys	Val	Phe	Gly	Leu	Gly	Ser	Arg	Ala		
				645					650					655			
Tyr	Pro	His	Phe	Cys	Ala	Phe	Ala	Arg	Ala	Val	Asp	Thr	Arg	Leu	Glu		

				660						665				670		
Glu	Leu	Gly	Gly	Glu	Arg	Leu	Leu	Gln	Leu	Gly	Gln	Gly	Asp	Glu	Leu	
		675					680					685				
Cys	Gly	Gln	Glu	Glu	Ala	Phe	Arg	Gly	Trp	Ala	Gln	Ala	Ala	Phe	Gln	
	690					695					700					
Ala	Ala	Cys	Glu	Thr	Phe	Cys	Val	Gly	Glu	Asp	Ala	Lys	Ala	Ala	Ala	
705					710					715					720	
Arg	Asp	Ile	Phe	Ser	Pro	Lys	Arg	Ser	Trp	Lys	Arg	Gln	Arg	Tyr	Arg	
				725					730					735		
Leu	Ser	Ala	Gln	Ala	Glu	Gly	Leu	Gln	Leu	Leu	Pro	Gly	Leu	Ile	His	
			740					745					750			
Val	His	Arg	Arg	Lys	Met	Phe	Gln	Ala	Thr	Ile	Arg	Ser	Val	Glu	Asn	
		755					760					765				
Leu	Gln	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Arg	Ala	Thr	Ile	Leu	Val	Arg	Leu	Asp	
	770					775					780					
Thr	Gly	Gly	Gln	Glu	Gly	Leu	Gln	Tyr	Gln	Pro	Gly	Asp	His	Ile	Gly	
785					790					795					800	
Val	Cys	Pro	Pro	Asn	Arg	Pro	Gly	Leu	Val	Glu	Ala	Leu	Leu	Ser	Arg	
				805					810					815		
Val	Glu	Asp	Pro	Pro	Ala	Pro	Thr	Glu	Pro	Val	Ala	Val	Glu	Gln	Leu	
			820					825					830			
Glu	Lys	Gly	Ser	Pro	Gly	Gly	Pro	Pro	Pro	Gly	Trp	Val	Arg	Asp	Pro	
		835					840					845				
Arg	Leu	Pro	Pro	Cys	Thr	Leu	Arg	Gln	Ala	Leu	Thr	Phe	Phe	Leu	Asp	
	850					855					860					
Ile	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser	Pro	Gln	Leu	Leu	Arg	Leu	Leu	Ser	Thr	Leu	
865					870					875					880	
Ala	Glu	Glu	Pro	Arg	Glu	Gln	Gln	Glu	Leu	Glu	Ala	Leu	Ser	Gln	Asp	
				885					890					895		
Pro	Arg	Arg	Tyr	Glu	Glu	Trp	Lys	Trp	Phe	Arg	Cys	Pro	Thr	Leu	Leu	
			900					905					910			
Glu	Val	Leu	Glu	Gln	Phe	Pro	Ser	Val	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Leu	Leu	
		915					920					925				
Leu	Thr	Gln	Leu	Pro	Leu	Leu	Gln	Pro	Arg	Tyr	Tyr	Ser	Val	Ser	Ser	
	930					935					940					
Ala	Pro	Ser	Thr	His	Pro	Gly	Glu	Ile	His	Leu	Thr	Val	Ala	Val	Leu	
945					950					955					960	
Ala	Tyr	Arg	Thr	Gln	Asp	Gly	Leu	Gly	Pro	Leu	His	Tyr	Gly	Val	Cys	
				965					970					975		
Ser	Thr	Trp	Leu	Ser	Gln	Leu	Lys	Pro	Gly	Asp	Pro	Val	Pro	Cys	Phe	
			980					985					990			
Ile	Arg	Gly	Ala	Pro	Ser	Phe	Arg	Leu	Pro	Pro	Asp	Pro	Ser	Leu	Pro	
	995						1									

Gln Arg Tyr His Glu Asp Ile Phe Gly Leu Thr Leu Arg Thr Gln Glu
 1155 1160 1165
 Val Thr Ser Arg Ile Arg Thr Gln Ser Phe Ser Leu Gln Glu Arg Gln
 1170 1175 1180
 Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Ser Asp Thr
 1185 1190 1195 1200
 Asn Ser Pro

<210> 17
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..4
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Bos taurus"

<400> 17

Pro Trp Ala Phe
 1

<210> 18
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..4
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Bos taurus"

<400> 18

Gly Ala Val Pro
 1

<210> 19
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..21
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Bos taurus"

<400> 19

Arg His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro
 1 5 10 15
 Asp Thr Pro Gly Pro
 20

<210> 20
 <211> 12

<212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..12
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Bos taurus"

<400> 20

Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro Asp Thr Pro Gly Pro
 1 5 10

<210> 21
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..11
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Bos taurus"

<400> 21

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp
 1 5 10

<210> 22
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Bos taurus

<220>
 <221> NGUỒN
 <222> 1..20
 <223> /mol_type="protein"
 /sinh vật="Bos taurus"

<400> 22

His Leu Arg Gly Ala Val Pro Trp Ala Phe Asp Pro Pro Gly Pro Asp
 1 5 10 15
 Thr Pro Gly Pro
 20