



(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)



1-0032599

(51)⁷ A61K 38/17; C07K 14/81

(13) B

(21) 1-2016-03524

(22) 23/02/2015

(86) PCT/US2015/017152 23/02/2015

(87) WO2015/127391 27/08/2015

(30) 61/943,617 24/02/2014 US

(45) 25/07/2022 412

(43) 25/01/2017 346A

(73) 1. TAKEDA GMBH (DE)

Byk-Gulden-Strasse 2, Konstanz, 78467 Konstanz, Germany

2. TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED (JP)

1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 541-0045, Japan

(72) CHAMBERLAIN, Aaron (US); LIU, Qiang (US); SCHMIDT, Mathias (DE).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) PROTEIN DUNG HỢP CHẤT ỨC CHẾ TRYPSIN NIỆU (UTI), PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA PROTEIN NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến protein dung hợp chất ức chế trypsin niệu (UTI), trình tự ADN để sản xuất protein này, và dược phẩm và phương pháp sản xuất protein này. Sáng chế cũng đề xuất axit nucleic mã hóa các protein này, vectơ biểu hiện chứa axit nucleic và tế bào chủ tái tổ hợp chứa vectơ biểu hiện này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến lĩnh vực sinh học phân tử, dược lý, và y tế.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Chất ức chế trypsin niệu (Urinary Trypsin Inhibitor - UTI), còn gọi là ulinastatin, uristatin, urinastatin, ulistin, chất ức chế 30 của người (human inhibitor 30 - HI-30), mingin và bikunin, là chất ức chế proteaza với phân tử lượng khoảng 40kD. UTI có trong nước tiểu và máu của người (hUTI) và có nhiều hoạt tính sinh lý như tác dụng ức chế họ serin proteaza, như trypsin, α -chymotrypsin, plasmin, cathepsin-G và elastaza bạch cầu. UTI cũng có tác dụng điều biến miễn dịch, và chất này có thể điều chỉnh giảm các xytokin gây viêm, như yếu tố hoại tử khối u α (tumor necrosis factor- α - TNF- α), interleukin-1 (IL-1) và interleukin (IL-6). Ngoài ra, UTI cũng cản trở đường truyền tín hiệu qua trung gian dime có hoạt tính PDGF-D (PDGF-DD)/PDGF-BBR bằng cách trung hòa dime.

hUTI đã được cấp phép lưu hành và một sản phẩm có bán trên thị trường Nhật với tên gọi Miraclid và chất này được tách từ nước tiểu của người. Thực tế, hUTI tách từ nước tiểu của người hiện có bán bởi một số nhà sản xuất để điều trị bệnh viêm tụy và chứng suy tuần hoàn cấp do sốc gây ra.

UTI lần đầu tiên được sản xuất ở người dưới dạng tiền protein gọi là AMBP (tiền chất α 1-microglobulin/bikunin), mà được mã hóa trên nhiễm sắc thể số 9 của người. Sự thủy phân protein AMBP tạo ra UTI tự do chứa 143 axit amin. UTI chứa hai vùng Kunitz mà đã biết là ức chế các serin proteaza, có các axit amin phi cấu trúc nằm bên sườn trên các đầu tận cùng N và C của UTI. Hai vùng này được trông đợi là tạo ra tính đặc hiệu khác nhau trong ức chế proteaza, nhờ các axit amin khác nhau liên quan đến liên kết proteaza. Với tính tương tự như các chất ức chế serin proteaza khác (ví dụ BPTI, chất ức chế trypsin tụy bò), có thể đánh giá rằng hai axit amin chủ yếu để ức chế proteaza bao gồm Met26 (vùng Kunitz 1) và Arg88 (vùng Kunitz 2). Mối liên quan của các phần khác nhau của UTI trong việc ức chế các proteaza khác nhau rất ít được biết đến, nhưng việc loại bỏ vùng Kunitz 1 đã thể hiện là thay đổi tính đặc hiệu

protease, cho thấy hoạt tính ức chế mới chống lại yếu tố Xa và kallikrien huyết tương. UTI đầy đủ độ dài không thể hiện khả năng ức chế hai proteaza này (Morishita et al., Thrombosis Research 1994, vol 73 (3/4) p193-204). UTI cũng gồm hai đường gắn vào, một đường được liên kết O ở Ser10 và một đường liên kết N ở Asn45. Thời gian bán thải của UTI ở loài gặm nhấm và ở người là 4-30 phút (Fries et al, International Journal of Biochemistry và Cell Biology, 2000, vol 32, p 125-137).

Protein dung hợp UTI cần phải chứa trình tự axit amin được tối ưu hóa, bao gồm các vị trí khởi đầu và kết thúc tốt nhất của các vùng UTI bất kỳ, và có thể được dung hợp với protein khác để tăng cường các đặc tính như khả năng biểu hiện, tính chế, thời gian bán thải, và độ ổn định. Trình tự chính xác của hợp phần dung hợp cần được xác định và có thể bao gồm nhiều liên kết, điểm khởi đầu/kết thúc, và/hoặc vị trí đột biến mà có thể thay đổi các đặc tính chức năng của hợp phần dung hợp.

Các biến thể của ulinastatin thu được từ nước tiểu đã biết qua WO199856916, US5792629, US5407915, US5409895, US7019123, và US6583108. Khái niệm protein dung hợp của ulinastatin (và các biến đổi của nó) đã được bộc lộ trong US20080181892, US5541288, và US20080255025. Các protein dung hợp UTI nhất định được mô tả trong CN 103044554A. Các protein dung hợp theo CN 103044554A có liên quan đến các biến thể đặc hiệu trong vùng Fc, có thể là để tránh các tác dụng được lý qua trung gian Fc bất kỳ (ADCC, CDC). Các tác giả sáng chế đã bất ngờ phát hiện rằng UTI-Fc với IgG1 kiểu đại được dung nạp tốt và làm tăng đáng kể thời gian bán thải. Tương tự, so với các protein dung hợp UTI theo CN 103044554A, các protein dung hợp UTI theo sáng chế, cụ thể là SEQ ID NO:1, thể hiện độ ổn định nhiệt lớn hơn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất các protein dung hợp UTI, được phẩm chứa các protein này, phương pháp tạo ra, và việc sử dụng các protein này.

Sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI, chứa vùng UTI và hợp phần dung hợp trong đó vùng UTI được liên kết hoạt động với hợp phần dung hợp. Sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI, chứa vùng UTI và vùng Fc trong đó vùng UTI được liên kết hoạt động với vùng Fc. Sáng chế cũng đề xuất protein dung hợp UTI phân lập như được mô tả trong bản mô tả.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI, chứa trình tự bao gồm SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, và 29. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:1. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:3. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:5. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:7. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:9. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:11. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:13. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:15. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:17. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:19. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:21. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:23. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:25. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:27. Theo một phương án, sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI chứa SEQ ID NO:29.

Theo một phương án khác của sáng chế, sáng chế đề xuất trình tự axit nucleic mã hóa protein dung hợp UTI bao gồm các protein dung hợp UTI được mô tả trong bản mô tả. Ngoài ra, sáng chế đề xuất trình tự ADN nêu trong SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, và 30. Theo một phương án, axit nucleic mã hóa protein dung hợp UTI còn chứa thêm vector chứa trình tự điều khiển mà liên kết hoạt động với axit nucleic này. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất tế bào chủ mang trình tự axit nucleic mà mã hóa protein dung hợp UTI, như tế bào động vật có vú, tế bào côn trùng, tế bào E. coli hoặc tế bào nấm men, và duy trì tế bào chủ này trong các điều kiện biểu hiện phân tử protein dung hợp.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa protein dung hợp UTI được mô tả trong bản mô tả và chất mang hoặc tá dược được dụng.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị rối loạn liên quan đến UTI bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng lượng hữu hiệu protein dung hợp UTI được mô tả trong bản mô tả.

Tức là, sáng chế đề xuất việc sử dụng protein dung hợp UTI làm thuốc, bao gồm việc sản xuất thuốc, và sử dụng protein dung hợp UTI được mô tả trong bản mô tả để điều trị các rối loạn liên quan đến UTI được mô tả trong bản mô tả.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 Cấu trúc vùng UTI và các vị trí glycosyl hóa.

Fig. 2 Hai cấu trúc UTI-Fc cho thấy các liên kết bị thay đổi.

Fig. 3 Các cấu trúc UTI-Fc khác nhau theo sáng chế.

Fig. 4 Chiến thuật lắp ghép ADN (SLIC) được dùng trong xây dựng cấu trúc dung hợp UTI.

Fig. 5 Ức chế hoạt tính proteaza (trypsin) bằng UTI và UTI-Fc1, SEQ ID NO:1

Fig. 6 Ức chế hoạt tính proteaza (chymotrypsin) bằng UTI-Fc1 và UFC1, SEQ ID NO:1.

Fig. 7 Ức chế hoạt tính proteaza (nhiều loại proteaza) bằng UTI-Fc1 và UFC1, SEQ ID NO:1.

Fig. 8 Ức chế sự tiết xytokin (IL-6) bằng UTI và UTI-Fc1, UTI-Fc, SEQ ID NO:1.

Fig. 9 Hiệu suất tinh chế của các protein dung hợp UTI.

Fig. 10 Tác dụng của SEQ ID NO:1 lên C5a do LPS gây ra ở chuột nhắt C3H.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI, chứa vùng UTI và hợp phần dung hợp trong đó vùng UTI được liên kết hoạt động với hợp phần dung hợp. Các protein dung hợp UTI theo sáng chế có tác dụng ức chế các proteaza, bao gồm trypsin.

Theo một số phương án, hợp phần dung hợp là polypeptit Fc. Theo một số phương án, hợp phần dung hợp là polypeptit Fc người. Theo một số phương án, hợp phần dung hợp là (các) dạng tương tự polypeptit Fc người. Theo một số phương án, hợp phần dung hợp là (các) đoạn tương tự polypeptit Fc người. Theo các phương án khác hợp phần dung hợp là polypeptit Fc chuột nhắt. Theo các phương án khác hợp phần dung hợp là polypeptit Fc chuột cống.

Theo một số phương án, hợp phần dung hợp là albumin người. Theo một số phương án, hợp phần dung hợp là dạng tương tự albumin người. Theo một số phương án, hợp phần dung hợp là albumin người cải biến. Theo một số phương án, hợp phần dung hợp là đoạn albumin người.

Theo một số phương án, vùng UTI là UTI người (hUTI). Theo một số phương án, vùng UTI là dạng tương tự hUTI. Theo một số phương án vùng UTI là đoạn hUTI. Theo một số phương án, protein dung hợp UTI chứa vùng hUTI kiểu đại.

Theo một số phương án, protein dung hợp UTI chứa vùng UTI người kiểu đại và vùng Fc người. Theo một số phương án, protein dung hợp UTI chứa vùng hUTI kiểu đại, và vùng liên kết, và vùng Fc người.

Theo một số phương án, protein dung hợp UTI chứa vùng UTI người kiểu đại và albumin người hoặc dạng tương tự của nó hoặc đoạn của nó. Theo một số phương án, protein dung hợp UTI chứa vùng hUTI kiểu đại, vùng liên kết, và albumin người hoặc dạng tương tự của nó hoặc đoạn của nó.

Theo một số phương án, vùng Fc liên kết với thụ thể Fc trên tế bào người. Theo một số phương án, thời gian bán thải trong huyết thanh của phân tử này dài hơn đáng kể so với thời gian bán thải trong huyết thanh của vùng UTI đơn độc. Theo một số phương án, hoạt tính ức chế proteaza của vùng UTI của phân tử này là bằng hoặc lớn hơn so với của vùng UTI đơn độc. Theo một số phương án, việc sử dụng phân tử này cho chuột nhất làm giảm các phản ứng viêm, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở giảm mức hoạt hóa các tế bào miễn dịch hoặc giảm mức sản sinh, mức tiết ra hoặc hoạt tính của các xytokin hoặc chemokin.

Cần hiểu rằng vùng UTI có thể liên kết hoạt động với hợp phần dung hợp bằng vùng liên kết.

Sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI, chứa vùng UTI được dung hợp với polypeptit được chọn từ nhóm gồm a) vùng Fc, b) dạng tương tự vùng Fc, và c) đoạn của vùng Fc trong đó vùng UTI được dung hợp với vùng Fc, dạng tương tự của nó, hoặc đoạn của nó bằng vùng liên kết. Sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI, chứa vùng hUTI được dung hợp với polypeptit được chọn từ nhóm gồm a) vùng Fc, b) dạng tương tự vùng Fc, và c) đoạn của vùng Fc trong đó vùng hUTI được dung hợp với vùng Fc, dạng tương tự của nó, hoặc đoạn của nó bằng vùng liên kết.

Các protein dung hợp theo sáng chế bao gồm các protein có dạng monome và multime được tạo ra bằng cách phân giải kháng thể nguyên vẹn hoặc được sản xuất bằng phương pháp khác.

Thuật ngữ ‘multime’ và ‘dạng multime’ chỉ các protein trong đó các vùng Fc hoặc các phân tử chứa vùng Fc có hai hay nhiều chuỗi polypeptit được liên kết cộng hóa trị, không cộng hóa trị, hoặc có cả tương tác cộng hóa trị và không cộng hóa trị. Thuật ngữ multime bao gồm thuật ngữ dime.

Thuật ngữ ‘dime’ chỉ các protein trong đó các vùng Fc hoặc phân tử chứa vùng Fc có hai chuỗi polypeptit được liên kết cộng hóa trị, không cộng hóa trị, hoặc có cả tương tác cộng hóa trị và không cộng hóa trị. Tức là, thuật ngữ ‘dime’ chỉ các protein dung hợp UTI trong đó hai vùng Fc được liên kết cộng hóa trị, không cộng hóa trị, hoặc có cả tương tác cộng hóa trị và không cộng hóa trị. Cụ thể hơn, thuật ngữ ‘dime’ chỉ các protein dung hợp UTI trong đó hai vùng Fc được liên kết cộng hóa trị.

Sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI, chứa vùng UTI dung hợp với polypeptit được chọn từ nhóm gồm a) albumin, b) dạng tương tự albumin, c) đoạn của albumin. Sáng chế đề xuất protein dung hợp UTI, chứa vùng hUTI được dung hợp với polypeptit được chọn từ nhóm gồm a) albumin người, b) dạng tương tự albumin, và c) đoạn của albumin trong đó vùng hUTI được dung hợp với albumin, dạng tương tự của nó, hoặc đoạn của nó bằng vùng liên kết.

Định nghĩa các thuật ngữ

Các thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ được định nghĩa như dưới đây trừ khi được chỉ định khác.

Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ ‘được liên kết,’ ‘được dung hợp,’ hay ‘dung hợp’ được sử dụng thay đổi lẫn nhau.

Các thuật ngữ này chỉ việc kết nối với nhau của hai hay nhiều phần tử hoặc thành phần hoặc vùng, theo cách bất kỳ bao gồm liên hợp hóa học hoặc cách tái tổ hợp. Phương pháp liên hợp hóa học là đã biết trong lĩnh vực này.

‘Protein dung hợp’ chỉ polypeptit có hai hay nhiều phần được liên kết cộng hóa trị với nhau, trong đó một hoặc nhiều phần này thu được từ các protein khác nhau. Hai phần có thể được liên kết trực tiếp bằng liên kết peptit đơn (ví dụ, các phần được liên

kết trực tiếp với nhau) hoặc thông qua peptit liên kết chứa một hoặc nhiều gốc axit amin (ví dụ bằng một axit amin hoặc trình tự axit amin xen kẽ giữa các phần). Nói chung, ADN mã hóa hai phần này và cấu trúc liên kết sẽ nằm trong khung đọc với nhau và được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật tái tổ hợp.

“Vùng UTI” là protein hoặc peptit mà bất chức hoạt tính của UTI. Cần hiểu rằng vùng UTI theo sáng chế có thể được thay đổi sao cho chúng thay đổi các trình tự có trong tự nhiên hoặc trình tự tự nhiên mà từ đó thu được chúng, trong khi vẫn giữ được hoạt tính mong muốn của trình tự tự nhiên. Tốt hơn, nếu vùng UTI là UTI người (hUTI) tự nhiên, dạng tương tự, và biến thể của nó. Các biến thể của hUTI bao gồm thay thế hoặc thay đổi một hoặc nhiều axit amin của hUTI tự nhiên mà không phải là đặc điểm cấu trúc cần thiết hay tạo ra hoạt tính chức năng, bao gồm các phép thế bảo toàn. Các biến thể của hUTI bao gồm loại bỏ hoặc chèn thêm một hoặc nhiều axit amin trong hUTI tự nhiên mà không phải là đặc điểm cấu trúc cần thiết hay tạo ra hoạt tính chức năng. Các biến thể của hUTI bao gồm thay thế hay thay đổi một hoặc nhiều axit amin của hUTI tự nhiên để thay đổi một hoặc nhiều tính chất hoặc hoạt tính. Các biến thể của hUTI bao gồm loại bỏ hay chèn thêm một hoặc nhiều axit amin trong hUTI tự nhiên để thay đổi một hoặc nhiều tính chất hoặc hoạt tính của UTI. Các biến thể của hUTI bao gồm xóa bỏ hoặc thay đổi các vị trí glycosyl hóa trong UTI người tự nhiên. Các biến thể của hUTI bao gồm loại bỏ hoặc thay đổi một hoặc nhiều vùng Kunitz. Các biến thể của hUTI có thể được tạo ra bằng các kỹ thuật chuẩn, như gây đột biến có định hướng vị trí và gây đột biến bằng PCR.

Trình tự gốc axit amin của vùng hUTI tái tổ hợp được nêu trong SEQ ID NO:31. Nói chung, vùng UTI bao gồm trình tự tương đồng ít nhất 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với vùng hUTI tái tổ hợp được nêu trong SEQ ID NO:31.

“Vùng Fc” là polypeptit chứa vùng hằng định của kháng thể ngoại trừ vùng globulin miễn dịch vùng hằng định thứ nhất và trong một số trường hợp, một phần hoặc toàn bộ vùng bản lề. Do đó, vùng Fc chỉ phần không liên kết kháng nguyên của kháng thể, ở dạng monome hoặc multimer. Kháng thể mà từ đó tạo ra vùng Fc arises tốt hơn là có nguồn gốc từ người và có thể là globulin miễn dịch bất kì, dù IgG1 và IgG2 được ưu tiên.

Vùng Fc bao gồm vùng bản lề của chuỗi nặng. Thuật ngữ “bản lề” hoặc “vùng bản lề” hoặc “vùng bản lề của kháng thể” hoặc “vùng bản lề của globulin miễn dịch” ở đây có nghĩa là polypeptit linh hoạt chứa các axit amin nằm giữa các vùng hằng định thứ nhất và thứ hai của kháng thể, ngay phía trước vị trí phân cắt bằng papain. Theo đó, đối với IgG, vùng Fc bao gồm các vùng CH2 và CH3 của globulin miễn dịch và vùng bản lề giữa CH1 và CH2. Mặc dù giới hạn vùng Fc có thể thay đổi, vùng Fc chuỗi nặng IgG người thường được xác định là bao gồm các gốc C226 hoặc P230 đến đầu tận cùng carboxyl của nó, trong đó việc đánh số là theo chỉ số EU và theo Kabat. Theo một số phương án, như được mô tả đầy đủ hơn dưới đây, các thay đổi về axit amin được tạo ra trong vùng Fc, chẳng hạn để thay đổi khả năng liên kết với một hoặc nhiều thụ thể FcγR hoặc thụ thể FcRn.

Theo đó, theo các phương án nhất định, thuật ngữ vùng Fc bao gồm vùng bản lề mà có thể được cắt cụt, sửa đổi bằng cách thay thế, xóa bỏ và/hoặc chèn thêm và cả vùng bản lề đã sửa đổi hoặc không có thể là vị trí gắn kết của vùng liên kết.

“Dạng tương tự vùng Fc” chỉ phân tử hoặc trình tự mà được sửa đổi từ Fc tự nhiên nhưng vẫn chứa vị trí liên kết cho thụ thể dự phòng. Thuật ngữ dạng tương tự vùng Fc bao gồm phân tử hoặc trình tự mà được làm giống như của người từ Fc tự nhiên không phải của người. Thuật ngữ dạng tương tự vùng Fc cũng bao gồm phân tử hoặc trình tự mà không có, hoặc có các thay đổi một hoặc nhiều gốc Fc tự nhiên mà ảnh hưởng hoặc có liên quan đến sự hình thành disulfua, không tương thích với tế bào chủ, không đồng nhất ở đầu tận cùng N khi biểu hiện, độ ổn định, glycosyl hóa, tương tác với bổ thể, liên kết với thụ thể Fc dự phòng và/hoặc tương tác với thụ thể Fcγ.

Thuật ngữ “các đoạn của vùng Fc” hoặc “đoạn của vùng Fc” chỉ Fc tự nhiên mà từ đó một hoặc nhiều vị trí đã được loại bỏ trong đó (các) vị trí đã loại bỏ này không tạo ra các đặc điểm cấu trúc hoặc hoạt tính chức năng cần thiết đối với protein dung hợp theo sáng chế. Các đoạn của vùng Fc bao gồm xóa bỏ các gốc từ Fc tự nhiên hoặc cắt cụt Fc tự nhiên và có thể bao gồm phép thế các gốc còn lại. Các gốc được chèn vào hoặc được thay đổi (ví dụ, các gốc được thế) có thể là axit amin tự nhiên hoặc axit amin được thay đổi, giả peptit, axit amin không tự nhiên, hoặc D-axit amin.

Nói chung, vùng Fc bao gồm trình tự mà tương đồng ít nhất 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%,

98%, hoặc 99% với IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE, hoặc IgM, trong IgG1 hoặc IgG2 người cụ thể.

Thuật ngữ vùng Fc bao gồm Fc tự nhiên và các dạng tương tự Fc và bao gồm dạng monome và multimer được tạo ra bằng cách phân giải kháng thể nguyên vẹn hoặc tạo ra bằng các phương pháp khác.

Theo các phương án nhất định, vùng Fc chứa ít nhất một vùng bản lề (vùng bản lề trên, giữa và/hoặc dưới), vùng CH2 (hoặc biến thể đoạn của nó), và vùng CH3 (hoặc biến thể hoặc đoạn của nó). Theo một phương án khác, vùng Fc chứa vùng bản lề (vùng bản lề trên, giữa và/hoặc dưới), vùng CH2 (hoặc biến thể đoạn của nó), và vùng CH3 (hoặc biến thể hoặc đoạn của nó). Theo các phương án khác nhất định, vùng Fc chứa vùng bản lề (vùng bản lề trên, giữa và/hoặc dưới), vùng CH2 (hoặc biến thể đoạn của nó), vùng CH4 (hoặc biến thể hoặc đoạn của nó), và vùng CH4 (hoặc biến thể hoặc đoạn của nó). Theo một phương án khác, vùng Fc bao gồm vùng bản lề (vùng bản lề trên, giữa và/hoặc dưới) và vùng CH2. Theo một phương án khác, vùng Fc bao gồm vùng bản lề (vùng bản lề trên, giữa và/hoặc dưới) và vùng CH3 (hoặc biến thể hoặc đoạn của nó). Theo một phương án khác, vùng Fc bao gồm vùng CH2 (hoặc biến thể hoặc đoạn của nó), và vùng CH3 (hoặc biến thể hoặc đoạn của nó). Theo một phương án khác, vùng Fc bao gồm vùng CH2 hoàn chỉnh và vùng CH3 hoàn chỉnh. Theo một phương án khác, vùng Fc bao gồm vùng CH2 hoàn chỉnh và vùng CH3 hoàn chỉnh. Theo một phương án, vùng Fc theo sáng chế bao gồm ít nhất một phần của phân tử Fc đã biết trong lĩnh vực này là cần thiết để liên kết FcRn. Theo một phương án khác, vùng Fc theo sáng chế bao gồm ít nhất một phần của phân tử Fc đã biết trong lĩnh vực này là cần thiết để liên kết Protein A. Theo một phương án khác, vùng Fc theo sáng chế bao gồm ít nhất một phần của phân tử Fc đã biết trong lĩnh vực này là cần thiết để liên kết Protein G.

Theo sáng chế, vùng Fc nói chung chỉ polypeptit chứa tất cả hoặc một phần của vùng Fc của chuỗi nặng globulin miễn dịch. Như đã thảo luận trên đây, vùng Fc bao gồm nhưng không giới hạn ở các polypeptit chứa toàn bộ vùng bản lề, các vùng CH1, CH2, và/hoặc CH3 cũng như đoạn của các peptit như vậy chứa, ví dụ, vùng bản lề, các vùng CH2 và CH3. Vùng Fc có thể thu được từ globulin bất kỳ của loại và/hoặc kiểu phụ bất kỳ, bao gồm nhưng không giới hạn ở, kháng thể IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgA, IgE, hoặc IgM của người. Vùng Fc bao gồm hai vùng globulin miễn dịch vùng

hằng định cuối của IgA, IgD, và IgG, ba vùng globulin miễn dịch vùng hằng định cuối của IgE và IgM, và vùng bản lề linh hoạt nằm ở đầu tận cùng N của các vùng này. Đối với IgA và IgM, Fc có thể bao gồm chuỗi J.

Vùng Fc như được sử dụng ở đây bao gồm các phân tử Fc tự nhiên và biến thể Fc. Như với các protein biến thể Fc và Fc tự nhiên, thuật ngữ vùng Fc bao gồm các phân tử dạng monome và multime, được phân giải từ kháng thể hoặc được tạo ra theo cách khác.

Như đã nêu ở đây, cần hiểu rằng vùng Fc bất kỳ có thể được thay đổi sao cho nó thay đổi trong trình tự axit amin từ vùng Fc tự nhiên của phân tử globulin miễn dịch có trong tự nhiên. Theo các phương án làm ví dụ nhất định, vùng Fc giữ được chức năng tác động, ví dụ, liên kết FcγR. Theo các phương án làm ví dụ nhất định, vùng Fc không có chức năng tác động, ví dụ, liên kết FcγR.

Vùng Fc theo sáng chế có thể thu được từ các phân tử globulin miễn dịch khác nhau. Ví dụ, vùng Fc có thể bao gồm vùng CH2 và/hoặc CH3 thu được từ IgG1 và vùng bản lề thu được từ IgG3.

Theo một số phương án, các protein dung hợp UTI bao gồm vùng Fc. Vùng Fc hữu dụng để sản xuất các protein dung hợp UTI theo sáng chế có thể thu được từ một số nguồn khác nhau. Theo các phương án được ưu tiên, vùng Fc của protein dung hợp UTI thu được từ globulin miễn dịch người. Tuy nhiên, cần hiểu rằng vùng Fc có thể thu được từ globulin miễn dịch của loài động vật có vú khác, bao gồm ví dụ, loài gặm nhấm (ví dụ chuột nhắt, chuột cống, thỏ, chuột lang) hoặc động vật linh trưởng không phải người (ví dụ khi Chimpanzee, khi Macaque). Hơn nữa, vùng Fc của các protein dung hợp UTI hoặc phần của nó có thể thu được từ lớp globulin miễn dịch bất kỳ.

Thuật ngữ “kiểu đại” hoặc “wt” hoặc “tự nhiên” như được sử dụng ở đây nghĩa là trình tự axit amin hoặc trình tự nucleotit được phát hiện trong tự nhiên, bao gồm các biến dị alen. Protein, polypeptit, kháng thể, globulin miễn dịch, IgG, polynucleotit, ADN, ARN kiểu đại, và tương tự có trình tự axit amin hoặc trình tự nucleotit không bị thay đổi theo cách có chủ ý.

Theo các phương án nhất định, các protein dung hợp UTI theo sáng chế có thể sử dụng vùng liên kết. Vùng liên kết được sử dụng để kết nối hoạt động vùng UTI với hợp phần dung hợp.

Thuật ngữ “vùng liên kết” chỉ polypeptit liên kết, các cầu liên kết không phải peptit và tổ hợp của chúng. Cụ thể, vùng liên kết có thể là polypeptit. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “vùng liên kết” chỉ trình tự mà nối hai vùng với nhau theo trình tự thẳng. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “polypeptit liên kết” chỉ trình tự peptit hoặc polypeptit (ví dụ, trình tự peptit hoặc polypeptit tổng hợp) mà nối hai vùng với nhau theo trình tự axit amin thẳng của chuỗi polypeptit. Ví dụ, các polypeptit liên kết có thể được sử dụng để nối vùng UTI với vùng Fc. Tốt hơn, nếu polypeptit liên kết như vậy có thể làm cho phân tử polypeptit trở nên linh hoạt. Protein dung hợp UTI theo sáng chế chứa vùng liên kết, bao gồm peptit liên kết.

Ví dụ, vùng liên kết có thể được sử dụng để nối hai vùng với nhau theo trình tự axit amin thẳng của polypeptit liên kết, như liên kết vùng UTI với vùng Fc. Theo các phương án nhất định, vùng liên kết có thể được sử dụng để kết nối vùng UTI với vùng Fc. Vùng liên kết có thể được sử dụng để nối các vùng theo trật tự. Ví dụ, theo một số phương án cầu liên kết sẽ nối vùng UTI và vùng Fc theo thứ tự UTI-cầu liên kết-Fc, trong khi đó theo các phương án khác cầu liên kết sẽ nối vùng UTI và vùng Fc theo thứ tự Fc-cầu liên kết-UTI, trong đó các vùng polypeptit được biểu thị từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C. Các polypeptit liên kết làm ví dụ bao gồm các polypeptit mà chứa các gốc glyxin và serin, các polypeptit liên kết gọi là polypeptit liên kết Gly-Ser. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “polypeptit liên kết Gly-Ser” chỉ peptit chứa các gốc glyxin và serin. Ví dụ về polypeptit liên kết Gly-Ser bao gồm trình tự axit amin $\text{Ser}(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ trong đó n là số nguyên từ 1 đến 10, lần lượt SEQ ID NO:33-42. Theo một phương án, protein dung hợp UTI bao gồm một hoặc hai polypeptit liên kết Gly-Ser trong đó $n=1$. Theo một phương án, protein dung hợp UTI bao gồm một hoặc hai polypeptit liên kết Gly-Ser trong đó $n=2$. Theo một phương án, protein dung hợp UTI bao gồm một hoặc hai polypeptit liên kết Gly-Ser trong đó $n=3$. Theo một phương án, protein dung hợp UTI bao gồm một hoặc hai polypeptit liên kết Gly-Ser trong đó $n=4$. Theo một phương án, protein dung hợp UTI bao gồm một hoặc hai polypeptit liên kết Gly-Ser trong đó $n=5$. Theo một phương án, protein dung hợp UTI bao gồm một hoặc hai polypeptit liên kết Gly-Ser trong đó $n=6$. Theo một phương án, protein dung hợp UTI bao gồm một hoặc hai polypeptit liên kết Gly-Ser trong đó $n=7$. Theo một phương án, protein dung hợp UTI bao gồm một hoặc hai polypeptit liên kết Gly-Ser trong đó $n=8$. Theo một phương án, protein dung hợp UTI bao gồm một hoặc hai polypeptit

liên kết Gly-Ser trong đó $n=9$. Theo một phương án, protein dung hợp UTI bao gồm một hoặc hai polypeptit liên kết Gly-Ser trong đó $n=10$.

Một ví dụ khác về cấu trúc liên kết được nêu trong SEQ ID NO:43.

Thuật ngữ “chứa” nghĩa là hợp chất, tức là, protein dung hợp, có thể bao gồm các axit amin bổ sung ở đầu tận cùng N hoặc C hoặc cả hai đầu. Tất nhiên, các axit amin bổ sung này không ảnh hưởng đáng kể đến hoạt tính của hợp chất, tức là protein dung hợp.

Thuật ngữ “axit amin” chỉ các axit amin có trong tự nhiên và tổng hợp cũng như các thành phần tương tự axit amin và các giả axit amin mà có chức năng theo cách tương tự với các axit amin có trong tự nhiên. Các axit amin có trong tự nhiên là các axit amin được mã hóa bởi mã di truyền, cũng như các axit amin được mã hóa mà sau đó được sửa đổi, ví dụ, hydroxyprolin và phosphoserin. Các dạng tương tự axit amin chỉ hợp chất, tức là protein dung hợp mà có vùng cấu trúc hóa học cơ bản với các axit amin có trong tự nhiên, tức là, nguyên tử cacbon liên kết với nguyên tử hydro, nhóm carboxyl, nhóm amino, và nhóm R. Các dạng tương tự axit amin có nhóm được cải biến, hoặc tạo ra các khung peptit được cải biến, nhưng vẫn giữ được cùng cấu trúc hóa học cơ bản như các axit amin có trong tự nhiên.

Thuật ngữ “phép thế axit amin” chỉ việc thay thế ít nhất một gốc axit amin đã có trong trình tự axit amin xác định trước hoặc tự nhiên bằng axit amin thay thế khác.

Thuật ngữ “chèn thêm axit amin” chỉ việc chèn thêm một hoặc nhiều axit amin bổ sung vào trình tự axit amin xác định trước hoặc tự nhiên. Việc chèn thêm có thể thực hiện với một, hai, ba, bốn, năm, hoặc lên đến hai mươi gốc axit amin.

Thuật ngữ “xóa bỏ axit amin” chỉ việc loại bỏ ít nhất một axit amin từ trình tự axit amin xác định trước hoặc tự nhiên. Việc xóa bỏ có thể thực hiện với một, hai, ba, bốn, năm, hoặc lên đến hai mươi gốc axit amin.

Thuật ngữ “polypeptit,” “peptit,” và “protein” được sử dụng thay đổi lẫn nhau trong bản mô tả và chỉ polyme gốc gồm các gốc axit amin. Các thuật ngữ này áp dụng cho polyme axit amin trong đó một hoặc nhiều axit amin là axit amin không có trong tự nhiên, axit amin tổng hợp, hoặc giả axit amin.

Thuật ngữ “axit nucleic” chỉ deoxyribonucleotit hoặc ribonucleotit và các polyme của chúng ở dạng chuỗi đơn hoặc chuỗi kép. Thuật ngữ “axit nucleic” được sử dụng trao đổi lẫn nhau với gen, nucleotit, polynucleotit, cADN, ADN, và mARN. Trừ khi bị giới hạn cụ thể, thuật ngữ này bao gồm các axit nucleic chứa các đồng đẳng đã biết của nucleotit tự nhiên mà có tính chất liên kết tương tự như axit nucleic tự nhiên. Trừ khi bị giới hạn cụ thể, một trình tự nucleotit cụ thể cũng bao gồm các biến thể được cải biến theo cách bảo toàn của nó (ví dụ, các biến thể chứa các vị trí thể codon thoái hóa) và các trình tự bổ sung cũng như các trình tự được mô tả cụ thể.

Các polynucleotit theo sáng chế có thể bao gồm polyribonucleotit hoặc polydeoxyribonucleotit bất kỳ, mà có thể là ARN hoặc ADN không cải biến hoặc ARN hoặc ADN cải biến. Ví dụ, các polynucleotit có thể bao gồm các vùng mạch đơn hoặc mạch kép, các vùng mạch đơn hoặc mạch kép hỗn hợp. Ngoài ra, các polynucleotit có thể là các vùng mạch bộ ba chứa ARN hoặc ADN hoặc cả ARN và ADN. Các polynucleotit cải biến bao gồm các bazơ được cải biến, như các bazơ được trityl hóa hoặc các bazơ không phổ biến như inosin. Nhiều cải biến có thể được tạo ra đối với ARN và ADN, do đó polynucleotit bao gồm các dạng được cải biến bằng hóa học, bằng enzym, hoặc bằng cách chuyển hóa.

Thuật ngữ “được tạo dẫn xuất” hoặc dẫn xuất” chỉ hợp chất, tức là protein dung hợp mà có các phần dạng vòng, ví dụ, được liên kết ngang giữa các gốc xysteinyl, hợp chất, tức là protein dung hợp, được liên kết ngang, một hoặc nhiều cầu liên kết peptidyl được thay bằng cầu liên kết không phải peptit, hoặc đầu tận cùng N được thay thế bằng NRR_1 , NRC(O)R_1 , NRC(O)OR_1 , NHC(O)NHR_1 , $\text{NRS(O)}_2\text{R}_2$, succinamit hoặc nhóm khác trong đó R và R_1 được xác định trong bản mô tả và/hoặc đầu tận cùng C được thay thế bằng C(O)R_3 hoặc NR_4R_5 , và hợp chất, tức là protein dung hợp trong đó các gốc axit amin được cải biến bằng cách xử lý bằng các tác nhân có khả năng phản ứng với các mạch bên hoặc các gốc tận cùng đã chọn. R được chọn từ nhóm gồm hydro và C_{1-6} alkyl, R_1 được chọn từ nhóm gồm hydro và C_{1-6} alkyl, R_2 được chọn từ nhóm gồm C_{1-6} alkyl, C_{3-8} cycloalkyl, và phenyl tùy ý được thế; R_3 được chọn từ nhóm gồm hydro, C_{1-6} alkyl, và C_{3-8} cycloalkyl; R_4 được chọn từ nhóm gồm hydro và C_{1-6} alkyl; R_5 được chọn từ nhóm gồm hydro, C_{1-6} alkyl và C_{3-8} cycloalkyl; hoặc R_4 và R_5 cùng với nitơ mà chúng gắn vào tạo ra vòng no 4 đến 7 cạnh tùy ý có một nguyên tử khác loại bổ sung trong vòng được chọn từ nhóm N, O, và S.

Thuật ngữ “C₁₋₆ alkyl” đề cập đến alkyl mạch nhánh hoặc thẳng có một đến sáu nguyên tử cacbon.

Thuật ngữ “C₃₋₈ xycloalkyl” đề cập đến vòng alkyl đơn vòng hoặc vòng kép, no hoặc không no một phần (nhưng không hoàn toàn) có ba đến tám nguyên tử cacbon, và bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, và các chất tương tự. Thuật ngữ này được hiểu là bao gồm xyclopentyl và xyclohexyl được ngưng tụ benzo.

Thuật ngữ “phenyl tùy ý được thế” chỉ nhóm phenyl tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm gồm halo, C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ alkoxy, xyano, và triflometyl.

Điều chế

Các hợp chất, tức là các protein dung hợp theo sáng chế có thể được tạo ra bằng các phương pháp tổng hợp chuẩn, các kỹ thuật ADN tái tổ hợp, hoặc các phương pháp khác để tạo ra peptit và protein dung hợp. Theo một quy trình làm ví dụ, vùng hUTI được liên kết cộng hóa trị với vùng Fc bằng cách biểu hiện cấu trúc ADN mã hóa vùng UTI và vùng Fc và vùng liên kết bất kỳ.

Các phương pháp khác để tạo cấu trúc protein dung hợp UTI là đã biết. Theo một số phương án, hướng của vùng có thể được thay đổi để tạo cấu trúc phân tử Fc-UTI hoặc phân tử UTI-Fc hoặc phân tử UTI-Fc-UTI mà giữ được khả năng liên kết FcR và có vùng UTI hoạt động.

Theo một số phương án, các protein dung hợp UTI bao gồm vùng Fc kiểu đại mà có thể cho phép protein dung hợp trải qua quá trình nhập bào sau khi liên kết FcRn (thụ thể Fc mới sinh). Do đó, sáng chế cũng đề xuất phương pháp sản xuất các protein dung hợp UTI được bộc lộ. Các phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ chứa (các) axit nucleic đã phân lập mã hóa các protein dung hợp UTI theo sáng chế. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ thấy được rằng, việc này có thể thực hiện bằng nhiều cách, tùy thuộc vào bản chất của protein dung hợp UTI. Theo một số phương án, protein dung hợp UTI theo sáng chế được sản xuất và có thể được phân lập.

Nói chung, các axit nucleic được tạo ra mà mã hóa protein dung hợp UTI theo sáng chế. Các polynucleotit như vậy mã hóa vùng UTI, hợp phần dung hợp, và vùng

liên kết bất kỳ. Sáng chế cũng bao gồm các đoạn oligonucleotit thu được từ các polynucleotit được bộc lộ và trình tự axit nucleic bổ sung với các polynucleotit này.

Các polynucleotit có thể ở dạng ARN hoặc ADN. Các polynucleotit ở dạng ADN, cADN, ADN hệ gen, các dạng tương tự axit nucleic, và ADN tổng hợp thuộc phạm vi của sáng chế. ADN có thể là sợi đơn hoặc sợi kép, và nếu là sợi đơn, có thể là sợi mã hóa (có nghĩa) hoặc sợi không mã hóa (đôi nghĩa). Trình tự mã hóa mà mã hóa polypeptit có thể đồng nhất với trình tự mã hóa được đề xuất trong bản mô tả hoặc có thể là trình tự mã hóa khác, trình tự này, do sự dư thừa hoặc thoái hóa mã di truyền, mã hóa cùng các polypeptit như ADN được đề xuất trong bản mô tả.

Theo một số phương án, (các) axit nucleic mã hóa protein dung hợp UTI theo sáng chế được kết hợp vào vector biểu hiện, mà có thể là di truyền ngoài nhiễm sắc thể hoặc được thiết kế để tích hợp vào hệ gen của tế bào chủ mà nó được đưa vào. Các vector biểu hiện có thể chứa số trình tự điều hòa thích hợp bất kỳ (bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các trình tự kiểm soát phiên mã và dịch mã, trình tự khởi đầu, các vị trí gắn ribosom, các trình tự tăng cường, các điểm khởi đầu sao chép, v.v.) hoặc các thành phần khác (các gen chọn lọc, v.v.), tất cả chúng được liên kết hoạt động như đã biết rõ trong lĩnh vực này. Trong một số trường hợp, hai axit nucleic được sử dụng và mỗi axit nucleic được đặt trong một vector biểu hiện khác nhau (ví dụ, chuỗi nặng trong vector biểu hiện thứ nhất, chuỗi nhẹ trong vector biểu hiện thứ), hoặc theo cách khác chúng có thể được đặt trong cùng vector biểu hiện. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ thấy được rằng việc thiết kế (các) vector biểu hiện, bao gồm việc lựa chọn các trình tự điều hòa có thể phụ thuộc vào các yếu tố như việc chọn tế bào chủ, mức biểu hiện protein mong muốn, v.v.

Nói chung, các axit nucleic và/hoặc vector biểu hiện có thể được đưa vào tế bào chủ thích hợp để tạo ra tế bào chủ tái tổ hợp bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ thích hợp với tế bào chủ được chọn (ví dụ, biến nạp, chuyển nhiễm, điện chuyển, nhiễm), sao cho (các) phân tử axit nucleic được liên kết hoạt động với một hoặc nhiều yếu tố kiểm soát việc biểu hiện (ví dụ, trong vector, trong cấu trúc được tạo ra bằng các quy trình trong tế bào, được tích hợp vào hệ gen tế bào chủ). Tế bào chủ tái tổ hợp thu được có thể được duy trì trong các điều kiện thích hợp để biểu hiện (ví dụ, với sự có mặt của chất cảm ứng, trong động vật không phải người thích hợp, trong môi trường nuôi cấy thích hợp có bổ sung các muối, các yếu tố sinh trưởng, chất kháng sinh, thành

phần bổ sung dinh dưỡng thích hợp, v.v.), nhờ đó tạo ra (các) polypeptit được mã hóa. Trong một số trường hợp, các chuỗi nặng được tạo ra trong một tế bào và chuỗi nhẹ trong tế bào khác.

Các dòng tế bào động vật có vú có sẵn để làm tế bào chủ biểu hiện là đã biết trong lĩnh vực này và bao gồm nhiều dòng tế bào được làm bất tử của American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA bao gồm nhưng không giới hạn ở tế bào trứng chuột đồng Trung Quốc (Chinese hamster ovary - CHO), tế bào HEK 293, tế bào NSO, tế bào HeLa, tế bào thận chuột đồng con (baby hamster kidney - BHK), tế bào thận khỉ (COS), tế bào caxinom tế bào gan người (ví dụ, Hep G2), và một số dòng tế bào khác. Các tế bào không phải của động vật có vú bao gồm nhưng không giới hạn ở vi khuẩn, nấm men, côn trùng, và thực vật cũng có thể được sử dụng để biểu hiện các kháng thể tái tổ hợp. Theo một số phương án, các kháng thể này có thể được sản xuất trong động vật chuyển gen như bò hoặc gà.

Theo một phương án, các protein dung hợp theo sáng chế được mã hóa bởi trình tự nucleotit. Các trình tự nucleotit theo sáng chế có thể hữu dụng trong một số ứng dụng, bao gồm: tách dòng, liệu pháp gen, biểu hiện và tinh chế protein, gây đột biến, chủng ngừa ADN cho cơ thể chủ khi cần, sản xuất kháng thể để, ví dụ, gây miễn dịch thụ động, PCR, sản xuất đoạn mồi và mẫu dò, thiết kế và sản xuất siARN và tương tự. Theo một phương án, trình tự nucleotit theo sáng chế chứa, bao gồm, hoặc chủ yếu gồm, trình tự nucleotit được chọn từ SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, hoặc 32.

Theo một phương án, trình tự nucleotit bao gồm trình tự nucleotit tương đồng ít nhất 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với trình tự nucleotit nêu trong SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, hoặc 32. Theo một phương án, trình tự nucleotit bao gồm trình tự nucleotit liên kề tương đồng ít nhất 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với trình tự nucleotit liên kề nêu trong SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, hoặc 32.

Các protein dung hợp UTI theo sáng chế chứa trình tự (ví dụ, ít nhất một vùng Fc) thu được từ trình tự globulin miễn dịch người. Tuy nhiên, các trình tự có thể chứa

một hoặc nhiều trình tự từ loài động vật có vú khác. Ví dụ, vùng Fc hoặc vùng nucleaza của động vật linh trưởng có thể có trong trình tự được quan tâm. Theo cách khác, một hoặc nhiều axit amin của chuỗi có thể có mặt trong polypeptit. Theo một số phương án, các trình tự polypeptit theo sáng chế không sinh miễn dịch và/hoặc có tính sinh miễn dịch yếu. Các protein dung hợp UTI theo sáng chế có thể bao gồm các phép thế axit amin bảo toàn ở một hoặc nhiều gốc axit amin, ví dụ, các gốc axit amin thiết yếu hoặc không thiết yếu. “Phép thế axit amin bảo toàn” là phép thế trong đó gốc axit amin được thay thế bằng gốc axit amin có mạch bên tương tự. Các họ gốc axit amin có mạch bên tương tự đã được xác định trong lĩnh vực này, bao gồm các mạch bên cơ bản (ví dụ, lysin, arginin, histidin), các mạch bên axit (ví dụ, axit aspartic, axit glutamic), các mạch bên phân cực không tích điện (ví dụ, glyxin, asparagin, glutamin, serin, threonin, tyrosin, cystein), các mạch bên không phân cực (ví dụ, alanin, valin, leucin, isoleucin, prolin, phenylalanin, methionin, tryptophan), các mạch bên có nhánh beta (ví dụ, threonin, valin, isoleucin) và các mạch bên thơm (ví dụ, tyrosin, phenylalanin, tryptophan, histidin). Do đó, gốc axit amin không thiết yếu trong polypeptit liên kết tốt hơn nếu được thay thế bằng gốc axit amin khác từ họ có cùng mạch bên. Theo một phương án khác, các chuỗi axit amin có thể được thay thế bằng chuỗi tương tự về mặt cấu trúc mà khác ở thứ tự và/hoặc thành phần các thành viên trong họ mạch bên. Theo cách khác, theo một phương án khác, các phép đột biến có thể được tạo ra ngẫu nhiên dọc theo toàn bộ hoặc một phần trình tự mã hóa, như bằng cách gây đột biến bão hòa, và các thể đột biến thu được có thể được kết hợp vào polypeptit liên kết theo sáng chế và sàng lọc về khả năng liên kết của chúng với đích mong muốn.

Sử dụng

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp chẩn đoán và điều trị các tình trạng bệnh lý liên quan đến UTI. Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ “tình trạng bệnh lý” “rối loạn”, và “bệnh” đề cập đến trạng thái không khỏe mạnh hoặc bất thường bất kỳ. Thuật ngữ “các tình trạng bệnh lý liên quan đến UTI” bao gồm các tình trạng bệnh lý, rối loạn, và bệnh trong đó UTI tạo ra tác dụng điều trị. Thuật ngữ “các tình trạng bệnh lý liên quan đến UTI” bao gồm các tình trạng bệnh lý đặc trưng bởi tác dụng điều biến miễn dịch hoặc tác dụng viêm. Cụ thể, thuật ngữ các tình trạng bệnh lý liên quan đến UTI bao gồm viêm tụy, bao gồm viêm tụy cấp và viêm tụy mạn tính, hội chứng đáp ứng viêm hệ thống, suy tuần hoàn cấp (ví dụ, do sốc), đông máu rải rác nội

mạch, và hội chứng loại nặng đa cơ quan. Thuật ngữ các tình trạng bệnh lý liên quan đến UTI cũng bao gồm việc sử dụng ở các bệnh nhân được phẫu thuật rủi ro cao. Thuật ngữ các tình trạng bệnh lý liên quan đến UTI cũng bao gồm nhiễm trùng phổi, gan, tim, hoặc thận. Thuật ngữ các tình trạng bệnh lý liên quan đến UTI cũng bao gồm nhiễm khuẩn nghiêm trọng. Thuật ngữ các tình trạng bệnh lý liên quan đến UTI cũng bao gồm thương tổn phổi cấp (acute lung injury - ALI) do virus SARS gây ra hoặc hội chứng suy hô hấp cấp (acute respiratory distress syndrome - ARDS).

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý có liên quan đến UTI bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng lượng hữu hiệu, ví dụ, lượng hữu hiệu điều trị, protein dung hợp UTI được bộc lộ. Theo các phương án nhất định, tình trạng bệnh lý là một trong số các tình trạng được nêu trong bản mô tả.

Dược phẩm theo sáng chế được bào chế theo cách đã biết rõ trong lĩnh vực dược và chứa ít nhất một protein dung hợp UTI theo sáng chế làm thành phần hoạt tính. Dược phẩm chứa các protein dung hợp UTI được sử dụng theo sáng chế được bào chế bằng cách trộn protein dung hợp UTI có độ tinh khiết mong muốn với tá dược được dụng tùy ý. Thuật ngữ “tá dược được dụng” đề cập đến các tá dược thông thường được sử dụng trong bào chế dược phẩm và cần phải tinh khiết về mặt dược và không độc ở lượng được sử dụng. Chúng thường là nguyên liệu rắn, bán rắn, hoặc lỏng mà về tổng thể có thể dùng làm chất dẫn hoặc môi trường cho thành phần hoạt tính. Một số ví dụ về tá dược được dụng có thể tìm thấy trong tài liệu Remington's Pharmaceutical Sciences and Handbook of Pharmaceutical Excipients và bao gồm chất pha loãng, chất dẫn, chất mang, nền giải phóng chậm, chất ổn định, chất bảo quản, dung môi, chất tạo huyền phù, dung dịch đệm, chất nhũ hoá, chất tạo màu, chất đẩy, chất bao, và các chất khác. Thông thường đối với việc tiêm hoặc đường dùng trong tĩnh mạch các protein dung hợp UTI theo sáng chế ở dạng bào chế đông khô, hoặc dung dịch nước.

Các tá dược được dụng là không độc với đối tượng ở lượng được dùng, và bao gồm các dung dịch đệm như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ khác; chất chống oxy hoá bao gồm axit ascorbic và methionin; chất bảo quản (như octadecyldimethylbenzyl amoni clorua; hexamethoni clorua; benzalkoni clorua, benzethoni clorua; phenol, butyl hoặc benzyl alcohol; các alkyl paraben như metyl hoặc propyl paraben; catechol; resorcinol; xyclohexanol; 3-pentanol; và m-cresol); các polypeptit phân tử lượng thấp (ít hơn khoảng 10 gốc); các protein, như albumin huyết thanh, gelatin, hoặc các

globulin miễn dịch; các polyme ưa nước như polyvinylpyrrolidon; các axit amin như glyxin, glutamin, asparagin, histidin, arginin, hoặc lysin; các monosacarit, disacarit, và các carbohydrat bao gồm glucoza, mannoza, hoặc dextrin; các tác nhân chelat hóa như EDTA; các đường như sacaroza, manitol, trehaloza hoặc sorbitol; các ion đối tạo muối như natri; các phức kim loại (ví dụ phức Zn-protein); và/hoặc các chất hoạt động bề mặt không ion như TWEEN™, PLURONICS™ hoặc polyetylen glycol (PEG).

Các dược phẩm ở đây cũng có thể chứa nhiều hơn một hoạt chất, tức là protein dung hợp, nếu cần cho chỉ định cụ thể cần điều trị, tốt hơn là các hoạt chất với hoạt tính bổ sung mà không ảnh hưởng bất lợi đến nhau. Các phân tử như vậy thích hợp để đưa vào hỗn hợp với lượng hữu hiệu cho mục đích dự định.

Các dược phẩm để dùng in vivo cần phải vô trùng, hoặc gần như thế. Điều này dễ dàng đạt được bằng cách lọc qua màng lọc vô trùng.

Các protein dung hợp UTIs theo sáng chế được sử dụng cho đối tượng theo các phương pháp đã biết, như sử dụng trong tĩnh mạch dưới dạng liều lớn (bolus) hoặc truyền liên tục trong một khoảng thời gian, theo đường trong bắp, trong màng bụng, trong não tủy, dưới da, trong khớp, trong hoạt dịch, hoặc tiêm hoặc truyền hoặc khu trú trong nội tủy mạc, hoặc đường hít. Việc sử dụng protein dung hợp UTI này trong tĩnh mạch hoặc dưới da được ưu tiên.

Các thuật ngữ “điều trị,” “sự điều trị,” và “việc điều trị” bao gồm việc cải thiện các trạng thái được mô tả ở đây. Các thuật ngữ “điều trị,” “sự điều trị,” và “việc điều trị” bao gồm tất cả các quy trình làm chậm, ngăn chặn, kìm hãm, kiểm soát, hoặc ngừng tình trạng hoặc sự tiến triển của các trạng thái được mô tả ở đây, nhưng không nhất thiết biểu thị sự loại bỏ hoàn toàn tất cả các triệu chứng hoặc sự chữa khỏi trạng thái. Các thuật ngữ “điều trị,” “sự điều trị,” và “việc điều trị” nhằm bao gồm điều trị chữa trị các rối loạn trên. Các thuật ngữ “điều trị,” “sự điều trị,” và “việc điều trị” nhằm bao gồm điều trị phòng ngừa các rối loạn nêu trên.

Như được sử dụng ở đây các thuật ngữ “bệnh nhân” và “đối tượng” bao gồm người và các động vật không phải người, ví dụ, động vật có vú, chẳng hạn chuột nhắt, chuột, chuột lang, chó, mèo, thỏ, bò, ngựa, cừu, dê, và lợn. Thuật ngữ cũng bao gồm chim, cá, bò sát, lưỡng cư, và các động vật tương tự. Nên hiểu rằng bệnh nhân cụ thể

hơn là con người. Tương tự, các bệnh nhân và đối tượng cụ thể hơn là động vật có vú không phải người, chẳng hạn chuột nhắt, chuột, và chó.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “lượng hữu hiệu” đề cập đến lượng của hợp chất, tức là protein dung hợp theo sáng chế mà khi sử dụng liều đơn hoặc đa liều điều trị được cho bệnh nhân mắc tình trạng bệnh lý đã nêu. Lượng hữu hiệu có thể dễ dàng được xác định bởi toàn thể bác sĩ chẩn đoán được xem là chuyên gia y tế, như bác sĩ hoặc bác sĩ thú y được xem là người có hiểu biết trong lĩnh vực, bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết và bằng cách quan sát kết quả thu được từ những ca tương tự. Ví dụ, chuyên gia y tế có thể bắt đầu liều thuốc dùng trong dược phẩm ở mức thấp hơn cần thiết để đạt được hiệu quả điều trị mong muốn và tăng dần liều lượng đến khi đạt hiệu quả mong muốn.

Khi xác định lượng hữu hiệu, liều, một số yếu tố được xem xét bởi toàn thể bác sĩ chuẩn đoán, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: loại bệnh nhân; thể trọng, tuổi, và tình trạng sức khỏe chung; tình trạng bệnh lý, rối loạn, hoặc bệnh cụ thể liên quan; mức độ liên quan hoặc mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh lý, rối loạn, hoặc bệnh, đáp ứng của bệnh nhân riêng biệt; hợp chất cụ thể, tức là protein dung hợp được dùng; cách dùng; các đặc tính sinh khả dụng của chế phẩm được dùng; chế độ liều được chọn; việc sử dụng thuốc đi kèm; và các trường hợp liên quan khác. Lượng cụ thể có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này. Mặc dù các liều lượng này được dựa trên đối tượng người trung bình có thể trọng nằm trong khoảng từ 60kg đến 70kg, bác sĩ sẽ có thể xác định được liều thích hợp cho các bệnh nhân khác (ví dụ, trẻ sơ sinh) nếu thể trọng nằm ngoài khoảng thể trọng này.

Các chế độ liều có thể được điều chỉnh để mang lại đáp ứng mong muốn. Ví dụ, liều bolus đơn có thể được sử dụng, một số liều chia nhỏ có thể được sử dụng theo thời gian hoặc liều có thể được giảm hoặc tăng từng phần khi được chỉ định trong điều trị tình trạng khẩn cấp.

Các chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa có thể được bào chế ở dạng liều đơn vị để dễ sử dụng và đảm bảo liều lượng đồng đều. Dạng liều đơn vị như được sử dụng ở đây chỉ đơn vị vật lý riêng rẽ thích hợp làm liều đơn nhất cho đối tượng cần điều trị; mỗi đơn vị chứa lượng hoạt chất định trước, tức là protein dung hợp, được tính toán để tạo ra hiệu quả điều trị mong muốn kết hợp với chất mang được dùng cần thiết.

Dược phẩm này tốt hơn là được bào chế ở dạng liều đơn vị, mỗi với liều thường chứa từ khoảng 0,5 mg đến khoảng 100 mg protein dung hợp UTI theo sáng chế. Thuật ngữ “dạng liều đơn vị” chỉ dạng liều riêng rẽ về mặt vật lý chứa lượng thành phần hoạt tính định trước, kết hợp với tá dược được dụng thích hợp, một hoặc nhiều liều đơn vị này được sử dụng trong suốt chế độ liều để tạo ra hiệu quả điều trị mong muốn. Một hoặc nhiều “dạng liều đơn vị” có thể được dùng để tác động đến liều lượng điều trị.

Ví dụ, khoảng, không giới hạn, lượng hữu hiệu protein dung hợp UTI được sử dụng trong sáng chế là khoảng 0,1-100 mg/kg, như khoảng 0,1-50 mg/kg, ví dụ khoảng 0,1-20 mg/kg, như khoảng 0,1-10 mg/kg, chẳng hạn khoảng 0,5 mg/kg, như khoảng 0,3 mg/kg, khoảng 1 mg/kg, hoặc khoảng 3 mg/kg. Theo một phương án khác, dung hợp UTI được sử dụng với liều 1 mg/kg hoặc cao hơn, như liều từ 1 đến 20 mg/kg, ví dụ liều từ 5 đến 20 mg/kg, ví dụ liều 8 mg/kg. Ví dụ, khoảng không giới hạn lượng hữu hiệu protein dung hợp UTI được sử dụng trong sáng chế là khoảng 1-500 mg/liều, như khoảng 1-100 mg/liều, ví dụ khoảng 1-50 mg/liều, như khoảng 1-10 mg/liều, chẳng hạn khoảng 1 mg/liều, hoặc khoảng 3 mg/liều, hoặc khoảng 5 mg/liều.

Theo một phương án, protein dung hợp UTI được sử dụng bằng cách truyền theo liều 3 ngày một lần hoặc liều hằng tuần từ 10 đến 500 mg/liều. Việc sử dụng như vậy có thể được lặp lại nếu cần để duy trì hiệu quả điều trị mong muốn.

Theo các ví dụ không hạn chế, việc điều trị theo sáng chế có thể sử dụng liều protein dung hợp UTI với lượng khoảng 0,1-100 mg/kg, như 0,5, 0,9, 1,0, 1,1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 hoặc 100 mg/kg, mỗi ngày, vào ít nhất một ngày; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, hoặc 40 mg/kg, hoặc theo cách khác, ít nhất một lần một tuần 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 hoặc 20 mg/kg sau khi bắt đầu điều trị, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng. Theo các ví dụ không hạn chế, việc điều trị theo sáng chế may có thể sử dụng liều protein dung hợp UTI với lượng khoảng 1-100 mg/liều, như 1, 5, 10, 20, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100 150, 200, 250, 300, 350, hoặc 400 mg/liều. Vào ít nhất một lần một ngày 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, hoặc 40 mg/liều sau khi bắt đầu điều trị, hoặc

tổ hợp bất kỳ của chúng. Vào ít nhất một lần một tuần 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, hoặc 100 mg/liều sau khi bắt đầu điều trị, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng.

Các protein dung hợp UTI theo sáng chế có nhiều ứng dụng khác nhau, bao gồm điều trị các bệnh có liên quan đến UTI. Các protein dung hợp UTI theo sáng chế có thể ứng dụng trong điều trị các bệnh có liên quan đến hệ thống miễn dịch, bệnh tự miễn, bệnh viêm, các đáp ứng miễn dịch sau phẫu thuật, các bệnh liên quan đến lysosom, các bệnh đông tụ, các bệnh liên quan đến proteaza và liệu pháp phụ trợ khi phẫu thuật.

Các protein dung hợp UTI theo sáng chế có thể ứng dụng trong việc điều trị bệnh viêm tụy (bao gồm bệnh viêm tụy do nội soi gây ra và bệnh viêm tụy cấp), bệnh viêm khớp, SARS, hội chứng đáp ứng viêm hệ thống, suy tuần hoàn cấp, nhiễm trùng huyết, viêm gan, viêm ruột thừa, viêm đại tràng, suy cơ quan, thương tổn cơ quan (bao gồm tụy, thận, phổi), thương tổn tái tưới máu, hội chứng Stevens-Johnson, hoại tử biểu mô nhiễm độc, sốc, thương tổn thiếu máu cục bộ, thương tổn phổi cấp (bao gồm thương tổn do tách thành động mạch chủ cấp), hen, sung phổi, viêm phổi (bao gồm viêm phổi liên quan đến thở máy), đông máu rải rác nội mạch (disseminated intravascular coagulation - DIC), hội chứng suy hô hấp cấp (acute respiratory distress syndrome - ARDS), và hội chứng đáp ứng viêm hệ thống.

Các protein dung hợp UTI theo sáng chế có thể ứng dụng trong việc ức chế các proteaza, bao gồm serin proteaza, bao gồm, trypsin, chymotrypsin, thrombin, kallikrein, plasmin, elastaza, cathepsin, lipaza, hyaluronidaza, các yếu tố IXa, Xa, XIa, và XIIa, và elastaza bạch cầu nhân đa hình.

Các protein dung hợp UTI theo sáng chế có thể ứng dụng trong việc ức chế các chất trung gian gây viêm, như xytokin, yếu tố hoại tử khối u- α , interleukin-1, -1 β , -4, -6 và -8, -10 và chemokin.

Các protein dung hợp UTI theo sáng chế có thể ứng dụng trong điều trị bệnh ung thư, bao gồm ngăn ngừa sự xâm lấn và di căn của khối u, tốc độ chết tế bào theo chương trình thay đổi, và giảm mất mát chức năng thận trong điều trị bằng xisplatin.

Các protein dung hợp UTI theo sáng chế có thể ứng dụng trong điều trị AIDS, bao gồm điều trị phụ trợ.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây là ví dụ về các phương án cụ thể để thực hiện sáng chế. Các ví dụ này được đưa ra chỉ nhằm mục đích minh họa, và không được dự định để giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ. Các nỗ lực đã được thực hiện nhằm đảm bảo độ chính xác của các số liệu được sử dụng (ví dụ, lượng, nhiệt độ, v.v.), nhưng một số sai sót thí nghiệm và độ lệch, tất nhiên, vẫn được phép. Việc thực hiện sáng chế sẽ sử dụng, trừ khi được chỉ định khác, các phương pháp thông thường của hóa học protein, hóa sinh, các kỹ thuật ADN tái tổ hợp và được lý học, theo kỹ năng trong lĩnh vực này. Các kỹ thuật như vậy được giải thích đầy đủ trong tài liệu. Xem, ví dụ, T.E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties* (W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc.); Sambrook, et al, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg *Advanced Organic Chemistry* 3rd Ed. (Plenum Press) Vols A and B (1992).

Ví dụ 1: Xây dựng vector ADN mã hóa protein dung hợp UTI.

Các phương pháp thực hiện sinh học phân tử đã biết trong lĩnh vực này và có trong tài liệu, ví dụ, *Molecular Cloning: A laboratory Manual* 4th edition (Micheal Green and Joseph Sambrook, Cold Spring Harbor Press, 2012).

Gen mã hóa UTI-Fc1 được đặt mua từ dịch vụ tổng hợp gen tối ưu hóa codon GeneArt của Life Technologies (Carlsbad, CA). Trình tự protein như được liệt kê trong SEQ ID NO: 1 với peptit tín hiệu, MGWSCILFLVATATGVHS, được bổ sung cho việc xuất tiết. Fig. 1 thể hiện các vùng chung của UTI được sử dụng để dung hợp. Gen mã hóa UTI-Fc1 được lai ghép vào vector biểu hiện động vật có vú. Các vector biểu hiện động vật có vú đã biết trong lĩnh vực này bao gồm các vector pSecTag2/Hygro A, pcDNA4 và pcDNA6 (Life Technologies, Carlsbad CA). Vector này được phân giải bằng các enzym giới hạn, HindIII-HF và EcoRI của hãng New England Biolabs (NEB). Đoạn này được lai ghép vào vector biểu hiện mà tạo ra tính kháng carbenixilin và đã được phân giải bằng cùng hai enzym giới hạn này. Vector: tỷ lệ mol chèn 1:3 được sử dụng trong lai ghép. ADN được ghép vào được biến nạp vào

tế bào E.coli 10-beta khả biến hóa học của hãng NEB, và đưa lên các đĩa LB-Carbenixilin để sinh trưởng qua đêm. Các khuẩn lạc được nuôi qua đêm trong môi trường LB với Carbenixilin và ADN miniprep được chuẩn bị bằng QIAprep Spin Miniprep Kit của Qiagen (Qiagen, Hilden, Germany). Sau đó ADN được giải trình tự bằng cách sử dụng dịch vụ giải trình tự ADN của hãng Bio Applied Technologies Joint (BATJ, San Diego). Khuẩn lạc có trình tự thay đổi sau đó được nuôi trong môi trường LB với carbenixilin để tinh chế ADN bằng thiết bị BenchPro 2100 và MaxiCard của hãng Life Technologies.

Ví dụ 2: Xây dựng vector ADN mã hóa biến thể của protein dung hợp UTI-Fc

Các SEQ ID NO:1-28 liệt kê các trình tự ADN và protein của một số protein dung hợp UTI-Fc. Các protein dung hợp UTI này bao gồm các cải biến mà thay đổi phân lớp Ig, các cầu liên kết, vùng UTI, trật tự vùng UTI và vùng Fc (tận cùng N- hoặc C-), loại UTI, loại Fc, các gốc khởi đầu /kết thúc UTI, sự gán kết của đường, các vị trí nhạy với proteaza, và chức năng tác động của Fc. Một số protein UTI-Fc được minh họa trên Fig. 2 và Fig. 3. Các protein dung hợp UTI-Fc bao gồm ba cải biến axit amin ở Ser (IgG1 Fc3Ser, C154S/P172S/P265S) chứa các đột biến để thay đổi sự hình thành liên kết disulfua và chức năng FcγR.

Tạo cấu trúc biểu hiện UTI-Fc

Các trình tự nucleotit của UTI (ví dụ kiểu đại, S10A, và các biến thể K21S K22S) và các vùng Fc3Ser của người được tối ưu hóa codon để biểu hiện trong tế bào CHO và tổng hợp bởi hãng Life Technologies (Carlsbad, CA). Các cấu trúc sau đây được tạo ra trong vector biểu hiện CHO bằng cách lắp ráp các vùng UTI và Fc3Ser bằng phương pháp tách dòng độc lập trình tự và lai ghép (sequence and ligation-independent cloning- SLIC) (Li and Elledge 2007 Nature Methods 4(3):251-256): UTI-Fc3Ser, UTI S10A-Fc3Ser, UTI K21S K22S-Fc3Ser, UTI m2-Fc3Ser, UTI L1-Fc3Ser, UTI L2-Fc3Ser (Fig. 4A). Việc lắp ráp ADN bằng phương pháp SLIC được thực hiện bằng cách trộn vector được đuôi thẳng (30 ng), UTI (100 ng) và các sản phẩm PCR Fc3Ser (100 ng) với các trình tự nhô ra để tái tổ hợp tương đồng, và T4 ADN polymeraza (0,5 U) với thể tích 5 µL chứa dung dịch đệm NEBuffer 2 và BSA (New England Biolabs). Sau khi ủ 30 phút ở nhiệt độ trong phòng, hoạt tính của exonucleaza của T4 ADN polymeraza được dập tắt bằng cách bổ sung 2 mM dCTP.

Sau đó tiến hành tái tổ hợp tương đồng in vitro bằng gradien nhiệt độ từ 75°C đến 37°C trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng chứa ADN được lắp ráp được biến nạp hóa học vào tế bào E. coli TOP10 (Invitrogen), và đưa lên đĩa LB-aga chứa carbenixilin. Các khung đọc mở dùng cho các cấu trúc còn lại (UTI m1-Fc3Ser, UTI d1-Fc3Ser, UTI d2-Fc3Ser, UTI L3-Fc3Ser, UTI-Fc IgG2, Fc3Ser-UTI, và UTI chuột-IgG1 chuột) được tối ưu hóa codon và tổng hợp dưới dạng cấu trúc dung hợp. Các cấu trúc này được tách dòng vào vector biểu hiện bằng phương pháp SLIC như được mô tả trên đây (Fig. 4B). Các trình tự ADN của tất cả 13 cấu trúc trong vector được kiểm tra bằng cách giải trình tự ADN theo phương pháp Sanger.

Ví dụ 3: Biểu hiện các thể dung hợp UTI-Fc trong tế bào CHO.

Vector ADN mã hóa UTI-Fc1 được chuyển nhiễm ổn định vào tế bào CHO-S bằng cách sử dụng chất phản ứng Freestyle MAX Reagent của hãng Invitrogen. Các giống nuôi cấy khối lớn được đưa vào các bình T và chọn lọc bằng cách sử dụng môi trường CD CHO có bổ sung các nồng độ methionin sulfoximin (MSX) khác nhau nằm trong khoảng từ 50 đến 100 μ M. Khi các giống đã hồi phục từ bước chọn lọc, chúng được nhân lên để sản xuất và bảo quản lạnh đông. Thực hiện nhiều mẻ sản xuất để phục vụ việc thử nghiệm in vitro và in vivo. Quy trình sản xuất là nuôi cấy 10-14 ngày theo mẻ có bổ sung dinh dưỡng bằng môi trường CD FortiCHO, CD Efficient Feed B, và CD Efficient Feed C của hãng Invitrogen. Các thể tích sản xuất nằm trong khoảng từ 1L đến 3L, và các giống nuôi cấy được thu hoạch bằng cách ly tâm ở 3500 vòng/phút trong 1-2 giờ tiếp theo là lọc vô trùng dịch nổi và dịch nổi tế bào thu được được sử dụng trong bước tinh chế.

Ví dụ 4: Tinh chế protein dung hợp UTI-Fc.

Quy trình tinh chế 2 mẻ UTI-Fc1 được thực hiện bằng cách đưa 2,3 L môi trường được tạo điều kiện cho tế bào CHO với UTI-Fc1 được biểu hiện lên 30 ml protein A mAb select lx (GE healthcare) được cân bằng trong trisatri xitrat 25mM độ pH = 8,1, NaCl 125mM. Cột này được rửa bằng 2 thể tích cột (60ml) trisatri xitrat 25mM độ pH=8,1, NaCl 125mM và sau đó bằng 2 thể tích cột (60ml) trisatri xitrat 25mM độ pH=8,1, NaCl 2000mM. Sau đó cột này được cân bằng bằng 2 thể tích cột (60ml) trisatri xitrat 25mM độ pH = 8,1, NaCl 125mM. UTI-Fc1 được rửa giải bằng 7 thể tích cột (210 ml) gradien đến 100% axit xitric 25mM độ pH=2,9, NaCl 125mM. UTI-Fc1

được rửa giải dưới dạng hai đỉnh, đỉnh rộng, và có sườn bên ở khoảng độ pH = 5,5 và đỉnh nhọn hơn ở khoảng độ pH = 3,5. Sau đó, UTI-Fc đặc được trao đổi đệm vào dung dịch đệm cuối cùng là TBS độ pH 7,4 (tris 25mM, NaCl 130mM, KCl 2,7 mM độ pH 7,4) bằng thiết bị cô ly tâm Amicon Ultra với 30K M.W.C.O. Hiệu suất protein được tinh chế được thể hiện trên Bảng 1 và protein được bảo quản ở -80°C để dùng tiếp.

Bảng 1

Tên đỉnh	Thể tích đỉnh (mL)	Nồng độ sản phẩm cuối (mg/mL)	Hiệu suất sản phẩm cuối (mg)	Cột protein A Hiệu suất (%)	% so với tải lượng protein tổng
Đỉnh mẻ thứ nhất	40	10	110	59	52
Đỉnh mẻ thứ hai	40	11	150	72	68

Ví dụ 5: Biểu hiện và tinh chế các UTI-Fc protein dung hợp khác.

Vào ngày chuyển nhiễm, các tế bào CHO được đếm và gieo ở mật độ $2,2 \times 10^6$ tế bào sống/mL trong 90% trong tổng thể tích 900mL và nuôi trong bình lắc ở 33°C đến khi chuyển nhiễm. ADN lạnh đông được làm tan băng và bổ sung vào PEI (Polyetylenimin - một polyme cation) và AKT. ADN được bổ sung theo tỷ lệ 0,625ug/1 triệu tế bào. 1L tế bào cần có 1,25 mg. 90% tổng số ADN được bổ sung là ADN cần quan tâm = 1,125mg. 10% còn lại là AKT (mã hóa protein chống lại sự chết tế bào theo chương trình) = 0,125mg. PEI được bổ sung theo tỷ lệ 2,5ug/1 triệu tế bào. Để chuyển nhiễm 1 L lượng này là 5mg. Dung dịch PEI được bổ sung vào ADN pha loãng và ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút trước khi bổ sung phức ADN vào tế bào.

Các giống nuôi cấy được nuôi ở 33°C, 5% CO₂, và 125 vòng/phút. 1 đến 4 giờ sau khi chuyển nhiễm, 0,6mM axit Valproic được bổ sung vào. Để chuyển nhiễm 1L, lượng này là 2mL dung dịch gốc 300mM. Vào ngày 1, tác nhân chống kết tụ với tỷ lệ 1:250 được bổ sung vào tức là 4 mL/1L và 15% thể tích/thể tích CD Efficient Feed C tức là 150mL/1L. Vào ngày 5 và ngày 9, 15% CD Efficient Feed C được bổ sung vào.

Dịch nổi tế bào được thu hoạch vào ngày 14, các tế bào được đếm và hiệu giá protein được xác định. Các tế bào được ly tâm nhẹ xuống bằng cách ly tâm ở 3000 vòng/phút trong 30 phút ở 4°C. Dịch nổi được lọc qua bộ lọc 0,2 micromet và bảo quản ở 4°C hoặc làm lạnh đông ở -20°C.

Việc tinh chế các thể dung hợp UTI-Fc được thực hiện bằng phương pháp sắc ký Protein A. 200mL dịch nuôi cấy tế bào nổi được trộn với 2 ml hạt MabSelect Sure Protein A Sepharose và lọc qua đêm ở 4°C. Hỗn hợp hạt sau đó được ly tâm trong ống 50ml ở 1200 vòng/phút trong 5 phút và dịch nổi được thải bỏ. Các hạt được đưa vào cột và rửa ba lần bằng dung dịch đệm liên kết (Biorad, Hercules, CA). Các thể dung hợp UTI được rửa giải bằng 8 ml dung dịch đệm MAPS II Elution (Biorad, Hercules, CA). 2 ml dung dịch trung hòa (1M Tris-HCl độ pH=8) được bổ sung vào. Sau đó, các mẫu được trao đổi đệm vào xitrat 25mM, NaCl 125mM, độ pH=5,5 bằng cách ly tâm và pha loãng lặp lại nhiều lần bằng dung dịch đệm có sử dụng các đơn vị Amicon Centrifugal (30MWCO, 15 mL, Millipore). Fig. 9 liệt kê kết quả tinh chế các protein dung hợp UTI khác nhau.

Ví dụ 6: Ức chế các proteaza bằng protein dung hợp UTI

Thử nghiệm enzym in vitro về khả năng ức chế trypsin của UTI-Fc protein dung hợp

Dung dịch chứa UTI-Fc1 với các nồng độ khác nhau ($\leq$ nồng độ cuối 200 nM) được điều chế trong HEPES 50 mM, NaCl 150 mM, CaCl₂ 20 mM và Brij L23 0,01%, độ pH=7,4. Các thử nghiệm hoạt tính được tiến hành trong các đĩa Greiner 384-giếng thể tích nhỏ. Tất cả các bước được thực hiện ở nhiệt độ môi trường.

Trypsin tụy người (nồng độ cuối 1,5nM) (Athens Research & Technology, Inc) được bổ sung vào các dịch pha loãng sau đó ủ trước với UTI-Fc thử nghiệm trong 15 phút. Tiếp theo, phản ứng được khơi mào bằng cơ chất N-Benzoyl-L-arginin-7-amido-4-methylcoumarin hydroclorua SIGMA B7260-25MG 100 μ M (nồng độ cuối). Tổng thể tích hỗn hợp phản ứng là 20 l. Hoạt tính của trypsin được xác định bằng huỳnh quang. Ví dụ, cường độ huỳnh quang được xác định bằng động lực học qua cửa sổ từ 30 đến 60 phút trên thiết bị BMG PHERAstar FS hoặc PHERAstar plus bằng cách sử dụng bước sóng kích thích 370 nm và bước sóng phát xạ 470 nm. Hoạt tính của

trypsin tỷ lệ tuyến tính với sự thay đổi mức huỳnh quang quan sát được (cuối—đầu). Tỷ lệ phần trăm ức chế trypsin ở nồng độ UTI-Fc đã cho được xác định là:

$$\text{Tỷ lệ phần trăm ức chế} = 100 * (1 - ((F_i - F_p) / (F_n - F_p)))$$

Trong đó: F_i mức huỳnh quang quan sát được ở nồng độ UTI-Fc thử nghiệm đã cho.

F_p là mức huỳnh quang quan sát được của đối chứng dương tức là giá trị trung bình của 2 đến 6 thử nghiệm không có trypsin.

F_n là mức huỳnh quang quan sát được của đối chứng âm tức là giá trị trung bình của 2 đến 6 thử nghiệm trypsin với chỉ với sự có mặt của chất dẫn.

IC₅₀ (nồng độ mol/L của hợp chất, tức là protein dung hợp, mà tức chế 50%) của hợp chất thử nghiệm, tức là protein dung hợp, được tính toán bằng cách khớp đường cong bình phương cực tiểu không tuyến tính của phương trình:

$$\text{Tỷ lệ phần trăm ức chế} = \text{Giá trị đáy} + ((\text{Giá trị đỉnh} - \text{Giá trị đáy}) / (1 + ((\text{IC}_{50} / [\text{UTI-Fc}])^{\text{Độ dốc}})))$$

Trong ô của UTI-Fc có một đối chứng dương. Như được thể hiện trên Fig. 5, UTI người có IC₅₀ là ~3 nM.

Mức độ ức chế các proteaza khác của UTI-Fc1 cũng được xác định tại Reaction Biology Corporation (Malvern, PA). Fig. 6 thể hiện khả năng ức chế chymotrypsin của UTI-Fc1. Fig. 7 liệt kê các hằng số ức chế của UTI-Fc1 đối với nhiều proteaza khác nhau. UTI-Fc1 ức chế chymotrypsin và plasmin vừa phải và thể hiện khả năng ức chế yếu caspaza-1, cathepsin C, và papain.

Ví dụ 7: Hiệu quả điều trị tế bào bằng protein dung hợp UTI

Khả năng ức chế sự giải phóng xytokin của UTI-Fc1 được xác định trong thử nghiệm dựa trên tế bào. Các tế bào BEAS2B được gieo ở mật độ 20000 tế bào/giếng trong đĩa 96 giếng và nuôi cấy bằng môi trường BEGM Bullet Kit (Lonza) đầy đủ trong máy ủ CO₂. Sau 24 giờ, môi trường nuôi cấy được thay bằng môi trường DMEM đơn giản để ngừng cung cấp dinh dưỡng và các tế bào được nuôi cấy qua đêm. Sau đó, các tế bào được ủ với môi trường DMEM đơn giản tươi chứa trypsin 100nM với các nồng độ khác nhau của protein UTI nước tiểu của người hoặc protein UTI-Fc1

tái tổ hợp. Sau 8 giờ, dịch nuôi cấy nổi được thu gom và mức protein IL-6 được đánh giá bằng cách sử dụng kit DuoSet IL-6 người (R&D Systems).

Kết quả chứng tỏ rằng cả UTI và UTI-Fc làm giảm sự sản sinh IL-6 do trypsin gây ra trong các tế bào BEAS2B. Như được thể hiện trên Fig. 8, mức độ ức chế là phụ thuộc liều với các giá trị IC50 lần lượt là 0,40 và 0,41 $\mu\text{g/mL}$.

Ví dụ 8 Xác định độ ổn định của phân tử UTI-Fc - biến tính bằng nhiệt

Các thử nghiệm được tiến hành để đo độ ổn định nhiệt và thời gian thực. Tất cả các phân tử chứng tỏ hoạt tính ức chế trypsin. Độ ổn định nhiệt được xác định bằng phương pháp đi nhiệt lượng quét vi sai tên nhiệt lượng kế Microcal VP-DSC. Các mẫu được chuẩn bị ở nồng độ 1 mg/ml và được đệm trong Tris 0,25 mM độ pH=7,4, NaCl 0,13M và KCl 0,0027M. Các mẫu được đun nóng từ 25°C đến 110°C với tốc độ 200°C một giờ. UTI-Fc1 được so sánh với đối tượng trong công bố đơn CN 103044554 A, SEQ ID 2 và 6, chứa lần lượt vùng Fc của IgG2 hoặc IgG1. Kết quả được thể hiện trong Bảng 8.

Bảng 8

Protein	DSC Tm1 (°C)	DSC Tm2 (°C)
UTI-Fc1 (SEQ ID NO:1)	70,86	85,79
CN 103044554 A SEQ ID 6	68,72	86,38
CN 103044554 A SEQ ID 2	68,47	79,22

Ví dụ 9: Xác định độ ổn định thời gian thực

Phép đo độ ổn định thời gian thực được tiến hành bằng cách ủ SEQ ID NO:1 (UTI-Fc1) hoặc CN 103044554 A, SEQ ID 2 hoặc 6 ở 2-8°C, và 40°C trong 0, 2 và 4 tuần trong dung dịch đệm TBS, độ pH=7,4. Sự tạo thành loại phân tử lượng cao hơn và thấp hơn được xác định bằng phương pháp sắc ký loại trừ theo kích cỡ (size exclusion chromatography - SEC) và hiện hình bằng phương pháp điện di trên gel polyacrilamit (polyacrilamide gel electrophoresis - PAGE). Nồng độ mỗi UTI-Fc được theo dõi bằng cách xác định độ hấp thụ của dung dịch ở 280nm (A280), bằng cách sử dụng hệ số tắt xác định bằng thành phần protein. Các phân tử UTI-Fc tạo ra hai đỉnh chồng lên nhau một phần, khi được phân tích bằng SEC. Tỷ lệ phần trăm diện tích đỉnh ở mỗi mẫu UTI-Fc được xác định bằng SEC được báo cáo trong Bảng 9 ở thời

điểm = 0 tuần, 2 tuần, và 4 tuần. Bảng này cũng thể hiện tỷ lệ phần trăm thay đổi về nồng độ đo được bởi A280 (% Δ (mg/ml)) ở thời điểm = 2 tuần và 4 tuần. Nồng độ ban đầu T0 của từng mẫu là UTI-Fc1 = 33,5mg/mL, CN 103044554 A SEQ ID 2 = 8,5mg/mL, và CN 103044554 A SEQ ID 6 = 5,6mg/mL. Độ thay đổi 3% là điển hình đối với SEC và 15% đối với các phép đo UV riêng rẽ. Phép phân tích bằng PAGE thể hiện rằng mỗi phân tử UTI-Fc thể hiện mẫu băng được trùng khớp với UTI-Fc đầy đủ chiều dài.

Bảng 9

Protein	SEC 0 tuần	SEC 2 tuần	SEC 4 tuần	% Δ (mg/ml) 2 tuần	% Δ (mg/ml) 4 tuần
UTI-Fc1 (SEQ ID NO:1)	Đỉnh 1 35,7% Đỉnh 2 64,3%	NA		NA	NA
UTI-Fc1 (SEQ ID NO:1) ở 2-8°C	NA	Đỉnh 1 36,2% Đỉnh 2 63,8%	Đỉnh 1 36,1% Đỉnh 2 63,9%	9,2%	1,2%
UTI-Fc1 (SEQ ID NO:1) ở 40°C	NA	Đỉnh 1 37,1% Đỉnh 2 62,9%	Đỉnh 1 36,8% Đỉnh 2 63,2%	0,2%	11,9%
CN 103044554 A SEQ ID 2	Đỉnh 1 30,6% Đỉnh 2 69,4%	NA	NA	NA	NA
CN 103044554 A SEQ ID 2 ở 2-8°C	NA	Đỉnh 1 29,0% Đỉnh 2 71,0%	Đỉnh 1 31,5% Đỉnh 2 68,5%	0,2%	2,7%
CN 103044554 A SEQ ID 2 ở 40°C	NA	Đỉnh 1 28,2% Đỉnh 2 71,8%	Đỉnh 1 30,3% Đỉnh 2 69,7%	1,6%	3,5%
CN 103044554 A SEQ ID 6	Đỉnh 1 36,6% Đỉnh 2 63,4%	NA	NA	NA	NA
CN 103044554 A SEQ ID 6 ở 2-8°C	NA	Đỉnh 1 34,8% Đỉnh 2 65,2%	Đỉnh 1 36,4% Đỉnh 2 63,6%	7,8%	9,5%
CN 103044554 A SEQ ID 6 ở 40°C	NA	Đỉnh 1 33,9% Đỉnh 2 66,1%	Đỉnh 1 34,5% Đỉnh 2 65,5%	3,6%	6,0%

Ví dụ 10: Thử nghiệm in vivo về ức chế bổ thể.

Tác dụng của UTI-Fc1 (SEQ ID NO:1) lên hệ bổ thể được xác định in vivo. Chuột nhắt C3h/HeJ cái được mua từ hãng Jackson Laboratories. Các chuột này được

cho dùng liều theo thiết kế thử nghiệm Bảng 10. Các chuột được tiêm trong màng bụng (100 ul/chuột) 15 phút sau khi sử dụng liều bằng LPS ở thời điểm không. Các chuột bị giết sau khi tiêm LPS 2 giờ và 4 giờ bằng CO₂ quá liều và máu được thu gom bằng cách chọc tim. Máu được chuyển vào vi ống tách huyết thanh và để cho đông ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Sau đó, các vi ống này được ly tâm ở 12000 vòng/phút trong 5 phút và huyết thanh được lấy ra và chia thành các phần phân ước trong đĩa 96 giếng. Axit rosmarinic được dùng làm đối chứng dương và sử dụng ở nồng độ 3 mg/ml trong nước muối. Đĩa 96 giếng được làm lạnh đông ở -20°C. Các mẫu huyết thanh được phân tích về hàm lượng C5a bằng kit DuoSet. Ý nghĩa thống kê được xác định bằng phần mềm đồ họa Prism và hiệu quả được xem là có ý nghĩa thống kê nếu $p < 0,05$. Như được thể hiện trên Fig. 10, SEQ ID NO:1 (UTI-Fc1) làm giảm đáng kể C5a ở nồng độ 20, 50, và 100 mg/kg tại thời điểm 4 giờ sau khi sử dụng liều LPS.

Bảng 10: Thiết kế thử nghiệm (UTI-Fc1 là SEQ ID:1)

Nhóm	Mô tả	Liều (mg/kg)	Nồng độ (mg/ml)	Thể tích (ml/kg) Đường dùng		Kích thích LPS (trong màng bụng)	Nồng độ LPS (mg/ml)	Động vật
1	tự nhiên							8
2	Chất dẫn -2 giờ	--	--	10	trong tĩnh mạch	30 ug	0,3	8
3	UTI-Fc1 -2 giờ	50	5,0	10	trong tĩnh mạch	30 ug	0,3	8
4	Ros_2 giờ_30mg/kg	30	3,0	10	dưới da	30 ug	0,3	8
5	Chất dẫn – 4 giờ	--	--	10	trong tĩnh mạch	30 ug	0,3	8
6	UTI-Fc1 -4 giờ_5mg/kg	5	0,5	10	trong tĩnh mạch	30 ug	0,3	8
7	UTI-Fc1 -4 giờ_20mg/kg	20	2,0	10	trong tĩnh mạch	30 ug	0,3	8
8	UTI-Fc1 -4 giờ_50mg/kg	50	5,0	10	trong tĩnh	30 ug	0,3	8

					mạch			
9	UTI-Fc1 -4 giờ_100mg/kg	100	10,0	10	trong tĩnh mạch	30 ug	0,3	8
10	Ros_4 giờ_30mg/kg	30	3,0	10	dưới da	30 ug	0,3	8

Danh mục trình tự

SEQ ID NO:1 Trình tự protein UTI-Fc 1

AVLPQEEEGSGGGQLVTEVTKKEDSCQLGYSAGPCMGMTSRYFYNGTSMAC
ETFQYGGCMGNGNNFVTEKECLQTCRTVAACNLPIVRGPCRAFIQLWAFDAV
KGKCVLFPYGGCQGNNGNKFYSEKECREYCGVPGDGDEELLGSGGGGDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHY
TQKSLSLSPG

SEQ ID NO:2 Trình tự ADN UTI-Fc 1

GCTGTGCTGCCTCAGGAAGAGGAAGGCTCTGGCGGAGGCCAGCTCGTGAC
CGAAGTGACCAAGAAAGAGGACTCCTGCCAGCTGGGCTACTCTGCCGGCC
CTTGTATGGGCATGACCTCCCGGTA CTTCTACAACGGCACCTCCATGGCCT
GCGAGACATTCCAGTACGGCGGCTGCATGGGCAACGGCAACAAC TTTGTG
ACAGAGAAAGAGTGCCTGCAGACCTGCAGAACCGTGGCCGCCTGTAACCT
GCCTATCGTGCGGGGACCCTGTCGGGCCTTTATCCAGCTGTGGGCCTTCGA
CGCCGTGAAGGGCAAATGCGTGCTGTTCCCCTATGGCGGCTGCCAGGGAA
ATGGAAACAAGTTCTACTCCGAGAAAGAATGCCGCGAGTACTGTGGCGTG
CCAGGCGACGGGGATGAGGAACTGCTGGGATCAGGCGGCGGAGGCGACA
AGACCCATACCTGTCCACCTTGCCCTGCCCCCGAGCTGCTGGGAGGACCTT
CTGTGTTCTGTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGA
CCCCTGAAGTGACCTGCGTGTTGGTGGTGGATGTGTCCACGAGGATCCCGAA
GTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGAC
CAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGC

TGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAG
 GTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCC
 AAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCAGGTGTACACACTGCCCCCTAGCCGGGA
 AGAGATGACAAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAGGGATTCT
 ACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGAAC
 AACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACTCCGACGGCTCATTCTTCCTG
 TACTCCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTT
 CTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
 CCTGTCCCTGAGCCCCGGC

SEQ ID NO:3 Trình tự protein UTI-Fc IgG1 3Ser

avlpqeeegsgggqlvtevtkkedscqlgysagpcmgmtsryfyngtsmacetfqyggcmgnngnnfvtekeclqter
 tvaacnlpivrgpcrafiqlwafdavkgkcvlfpyggcqnknkfysekecreycgvpgdgdellrepkssdkthtcp
 pcpapellggssvflfppkpkdtlmisrtpetvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvs
 vltvlhqdwlngkeykckvsnkalpasiektiskakgqprepqvylppsreemtknqvsitclvkgfypsdiavewes
 ngqpennykttpvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslsisp

SEQ ID NO:4 Trình tự ADN UTI-Fc IgG1 3Ser

gctgtgctgcctcaggaagaggaaggctctggcggaggccagctcgtgaccgaagtaccaagaaagaggactcctgcc
 agctgggctactctgccggcccttgatggcatgacctccggctacttctacaacggcacctccatggcctgcgagacattc
 cagtacggcggctgcatgggcaacggcaacaactttgtgacagagaaaagagtgctgcagacctgcagaacctggccg
 cctgtaacctgcctatcgtgcggggaccctgtcggggcctttatccagctgtgggccttcgacgccgtgaagggcaaatgcgt
 gctgttcccctatggcggctgccagggaatggaacaagttctactccgagaaagaatgccgcgagtactgtggcgtgcc
 aggcgacggggatgaggaactgctgcgggagcccaaatctccgacaagaccatacctgtccacctgcccctgccccg
 agctgctgggaggatcctctgtgttcctgttcccccaaaagcccaaggacacctgatgatctccggaccctgaagtga
 ctgctggtggtggatgtgtcccacgaggatcccgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgacaacgc
 caagaccaagcccagagaggaacagtacaactccacctaccgggtggtgtccgtgctgacctgctgcaccaggattggc
 tgaacggcaaaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggccctgcctccatcgaaaagaccatctccaaggccaag
 ggccagccccgggaacccaggtgtacacactgcccctagccgggaagagatgacaaagaaccaggtgtccctgacct
 gtctcgtgaagggaattctaccctccgatatgccgtggaatgggagtgcaacggccagcctgagaacaactacaagacca
 cccccctgtgctggactccgacggctcattctctgtactccaagctgacagtggaagaagtccgggtggcagcagggca
 acgtgttctcctgtccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacaccagaagtccctgtccctgagccccggc

SEQ ID NO:5 Trình tự protein UTI-Fc IgG2 Ser

avlpqeeegsgggqlvtevtkkedscqlgysagpcmgmtsryfngtmacetfgyggcmgnngnnfvtekeclqter
 tvaacnlpivrgpcrafiqlwafdavkgkcvlfpyggcgngnkfysekecreycgvpgdgdeellrkscvecppcpa
 ppvagpsvflfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgmevhnaktkpreeqfnstfrvsvltvv
 hqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepvytlppsreemtknqvsltlvkgfypsdiavewesngq
 pennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealnhhtqkslslspgk

SEQ ID NO:6 Trình tự ADN UTI-Fc IgG2 Ser

gctgtgctgcctcaggaagaggaaggctctggcggaggccagctcgtgaccgaagtaccaagaaaggactcctgcc
 agctgggctactctgccggcccttgatgggcatgacctcccggtacttctacaacggcacctccatggcctgcgagacattc
 cagtacggcggctgcatgggcaacggcaacaactttgtgacagagaaagagtgctgcagacctgcagaacctggccg
 cctgtaacctgcctatcgtgcggggaccctgtcgggacctttatccagctgtgggccttcgacgccgtgaagggcaaatgcgt
 gctgttccctatggcggctgccagggaatggaacaagtctactccgagaaagaatgccgcgagtactgtggcgtgcc
 aggcgacggggatgaggaactgctgcggaaatcctgtgtcagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccg
 tcagtcttctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgatctcccgacctgaggtcacgtgcgtggtggtggacg
 tgagccacgaagacccccgaggtccagttcaactggtagctggacggcatggaggtgcataatgccaagacaaagccacg
 ggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagt
 acaagtgcagggtctccaacaaaggcctcccagccccatcgagaaaacctctccaaaacaaagggcagccccgaga
 accacaggtgtacacctgccccatccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtaaaaggct
 tctaccccagcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctccatgct
 ggactccgacggctccttctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatg
 ctccgtgatgatgaggctctgcacaaccactacacagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO:7 Trình tự protein UTI-Fc IgG2

avlpqeeegsgggqlvtevtkkedscqlgysagpcmgmtsryfngtmacetfgyggcmgnngnnfvtekeclqter
 tvaacnlpivrgpcrafiqlwafdavkgkcvlfpyggcgngnkfysekecreycgvpgdgdeellrkccvecppcpa
 ppvagpsvflfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgmevhnaktkpreeqfnstfrvsvltvv
 hqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepvytlppsreemtknqvsltlvkgfypsdiavewesngq
 pennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealnhhtqkslslspgk

SEQ ID NO:8 Trình tự ADN UTI-Fc IgG2

gctgtgctgcctcaggaagaggaaggctctggcggaggccagctcgtgaccgaagtaccaagaaaggactcctgcc
 agctgggctactctgccggcccttgatgggcatgacctcccggtacttctacaacggcacctccatggcctgcgagacattc
 cagtacggcggctgcatgggcaacggcaacaactttgtgacagagaaagagtgctgcagacctgcagaacctggccg
 cctgtaacctgcctatcgtgcggggaccctgtcgggacctttatccagctgtgggccttcgacgccgtgaagggcaaatgcgt

gctgttcccctatggcggctgccagggaaatggaacaagtctactccgagaaagaatgccgcgagtactgtggcgtgcc
 aggcgacggggatgaggaactgctgcggaaatgtgtgctgagtgcccaccgtgccagcaccacctgtggcaggaccg
 tcagtcttctcttcccccaaaacccaaggacacctcatgatctccggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacg
 tgagccacgaagacccccgaggtccagtcaactggtacgtggacggcatggaggtgcataatgccaagacaaagccacg
 ggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagt
 acaagtgaaggctccaacaaggcctcccagccccatcgagaaaacctctccaaaaccaaagggcagccccgaga
 accacaggtgtacacctgcccccatccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaggct
 tctaccccagcgacatcgccgtggagtgaggagagcaatgggcagccggagaaactacaagaccacacctcccatgct
 ggactccgacggctccttctctctacagcaagctaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatg
 ctccgtgatgatgaggctctgcacaaccactacacagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO:9 Trình tự protein UTI-Fc IgG1 3Ser S10A

avlpqeeegagggqlvtevtkkedscqlgysagpcmgmtsryfyngtsmacetfgyggcmgnngnnfvtekeclqter
 tvaacnlpivrgpcrafiqlwafdavkgkcvlfpyggcqqngnkfysekecreycgvpgdgdellrepkssdkthtctp
 pcpapellgssvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvs
 vltvlhqdwlngkeykckvsnkalspasiektiskakgpprepqvylppsreemtknqvslclvkgfypsdiavewes
 ngqpennykttppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhcalhnhytqkslspsg

SEQ ID NO:10 Trình tự ADN UTI-Fc IgG1 3Ser S10A

gctgtgtcctcaggaagaggaaggcgcaggcggaggccagctcgtgaccgaagtgaccaagaaaggagactcctgc
 cagctgggctactctgccggccttgatgggcatgacctcccggtacttctacaacggcacctccatggcctgcgagacatt
 ccagtacggcgggtgcatgggcaacggcaacaactttgtgacagagaaagagtgctgcagacctgcagaaccgtggcc
 gcctgtaacctgcctatcgtgcggggaccctgtcgggcctttatccagctgtgggccttcgacgccgtgaagggcaaatgc
 gtgtgttcccctatggcggctgccagggaaatggaacaagtctactccgagaaagaatgccgcgagtactgtggcgtg
 ccaggcgacggggatgaggaactgctgcgggagcccaaatctccgacaagaccatacctgtccacctgcccctgcccc
 cgagctgctgggaggatcctctgtgttctgttcccccaaggccaaggacacctgatgatctccggacccctgaagtg
 acctgcgtggtggtgatgtgtcccacaggatcccgaagtgaagtcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaac
 gccaagaccaagcccagagaggaacagtacaactccacctaccgggtggtgtccgtgctgacctgctgcaccaggattg
 gctgaacggcaaaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggcctgcctgcctccatcgaaaagaccatctccaaggcca
 agggccagccccgggaaccccaggtgtacacactgccccctagccgggaagagatgacaaagaaccaggtgtccctga
 cctgtctcgtgaagggttctaccctccgatatcgccgtggaatgggagtgcaacggccagcctgagaacaactacaaga
 ccacccccctgtgtggactccgacggctcattcttctgtactccaagctgacagtggaagtcgggtggcagcagg
 gcaacgtgttctcctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacaccagaagtcctgtccctgagccccggc

SEQ ID NO:11 Trình tự protein UTI-Fc IgG1 3Ser m2

edscqlgysagpcmgmtsryfyngtsmacetfqyggcmngnfnvtekeclqtcrvaacnlpivrgpcrafiqlwaf
davkgkcvlfpyggcqnknkfysekecreycgvpgdgdellrepkssdkthtppcpapellggssvflfppkpkd
tlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsn
kalpasiektiskakgqprepvytlppsreemtknqvsltlvkgyfypsdiavewesngqpennyktpvldsdgsf
flyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealnhhytqkslsisp

SEQ ID NO:12 Trình tự ADN UTI-Fc IgG1 3Ser m2

gaggactcctgccagctgggctactctgccggcccttgatgggcatgacctcccggtacttctacaacggcacctccatgg
cctgcgagacattccagtacggcggctgcatgggcaacggcaacaactttgtgacagagaaagagtgcctgcagacctgc
agaaccgtggccgctgaacctgcctatcgtcggggacctgtcgggccttatccagctgtgggccttcgacgccgtga
agggcaaatgcgtgctgttccctatggcggctgccagggaatggaacaagtctactccgagaaagaatgccgcgagt
actgtggcgtgccaggcgacgggatgaggaactgctcgggagcccaaatctccgacaagaccatacctgtccacct
tgccctgccccgagctgctgggaggatcctctgtgttctgttcccccaagcccaaggacaccctgatgatctccgga
cccctgaagtgcctgcgtgggtggatgtgtccacgaggatcccgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtgg
aagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaactccactaccgggtggtgctcgctgacgtgct
gcaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggccctgcctgcctccatcgaaaagacca
tctccaaggccaaggccagccccgggaaccccagggtgtacacactgccccctagccgggaagagatgacaaagaacc
aggtgtccctgacctgtctcgtgaagggttctaccctccgatatcgccgtggaatgggagtccaacggccagcctgaga
acaactacaagaccacccccctgtgctggactccgacggctcattcttctgtactccaagctgacagtggacaagtccc
gtggcagcagggcaacgtgttctcctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacaccagaagtccctgtccct
gagccccggc

SEQ ID NO:13 Trình tự protein UTI-Fc IgG1 3Ser m1

avlpqeeegsgggqlvtevtkkepkssdkthtppcpapellggssvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpe
vkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpasiektiskakgqprepvy
tlppsreemtknqvsltlvkgyfypsdiavewesngqpennyktpvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsv
mhealnhhytqkslsisp

SEQ ID NO:14 Trình tự ADN UTI-Fc IgG1 3Ser m1

gctgtgctgcctcaggaagaggaaggctctggcggaggccagctcgtgaccgaagtgaacaagaaagagcccaaatctt
ccgacaagaccatacctgtccaccttgccctgccccgagctgctgggaggatcctctgtgttctgttcccccaagcc
caaggacaccctgatgatctccggaccctgaagtgcctgctgggtggatgtgtccacgaggatcccgaagtga

gttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaactccacctacc
 ggggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggcc
 ctgcctgcctccatcgaaaagaccatctccaaggccaagggccagccccgggaaccccaggtgtacacactgccccctag
 ccgggaagagatgacaaagaaccaggtgtccctgacctgtctcgtgaagggtattctacccctccgatatgccgtggaatg
 ggagtccaacggccagcctgagaacaactacaagaccacccccctgtgctggactccgacggctcattcttctgtactcc
 aagctgacagtggacaagtcccgggtggcagcagggcaacgtgttctcctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaacca
 ctacaccagaagtccctgtccctgagccccggc

SEQ ID NO:15 Trình tự protein UTI-Fc IgG1 3Ser link3

avlpqeeegsgggqlvtevtkkedscqlgysagpcmgmtsryfngtsmacetfgyggcmngnnfvtekeclqter
 tvaacnlpivrgpcrafiqlwafdavkgkcvlfpyggcgngnkfysekecreycgvpdgddeellgggsggggse
 pkssdkthtppcpapellggssvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpree
 qynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpasiektiskakgqprepvytlppsreemtknqvsltlvkgyf
 psdiavewesngqpennyktpvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslspsg

SEQ ID NO:16 Trình tự ADN UTI-Fc IgG1 3Ser link3

gctgtgctgcctcaggaagaggaaggctctggcggaggccagctcgtgaccgaagtaccaagaaaggactcctgcc
 agctgggctactctgccggcccttgatgggcatgacctcccggtacttctacaacggcacctccatggcctgcgagacattc
 cagtacggcggctgcatgggcaacggcaacaactttgtgacagagaaagagtgcctgcagacctgcagaacctggccg
 cctgtaacctgcctatcgtgcggggaccctgtcgggcctttatccagctgtgggccttcgacgccgtgaagggcaaatgcgt
 gctgttcccctatggcgggtgccagggaatggaacaagtctactccgagaaagaatgccgcgagtactgtggcgtgcc
 aggcgacggggatgaggaactgctgggaggtggtggatcaggtggcggaggatcagagcccaaatcttcgacaagac
 ccatacctgtccacctgccttgccttcccccgagctgctgggaggatcctctgtgttctgttcccccaaggccaaggacacc
 ctgatgatctcccgaccctgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtccacgaggatcccgaagtgaagttcaattggt
 acgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaactccacctaccgggtggtgt
 ccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggccctgcctgcc
 tccatcgaaaagaccatctccaaggccaagggccagccccgggaaccccaggtgtacacactgccccctagccgggaag
 agatgacaaagaaccaggtgtccctgacctgtctcgtgaagggtattctacccctccgatatgccgtggaatgggagtgcaa
 cggccagcctgagaacaactacaagaccacccccctgtgctggactccgacggctcattcttctgtactccaagctgaca
 gtggacaagtcccgggtggcagcagggcaacgtgttctcctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacca
 gaagtcctgtccctgagccccggc

SEQ ID NO:17 Trình tự protein UTI-Fc IgG1 3Ser link2

avlpqeeegsgggqlvtevtkkedscqlgysagpcmgmtsryfngtmacetfqyggcmgnngnnfvtekeclqter
 tvaacnlpivrgpcrafiqlwafdavkgkcvlfpyggcgngnkfysekecreycgvpgdgedeellrcppcpapellg
 gssvflfppkpkdtlmsirtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwl
 lngkeykckvsnkalpasiektiskakgqprepvytlppsreemtknqvsltlvkgfypsdiavewesngqpenny
 kttppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslsisp

SEQ ID NO:18 Trình tự ADN UTI-Fc IgG1 3Ser link2

gctgtgctgcctcaggaagaggaaggctctggcggaggccagctcgtgaccgaagtaccaagaaaggactcctgcc
 agctgggctactctgccggcccttgatgggcatgacctcccggtacttctacaacggcacctccatggcctgcgagacattc
 cagtacggcggctgcatgggcaacggcaacaactttgtgacagagaaagagtgcctgcagacctgcagaacctggccg
 cctgtaacctgcctatcgtgcggggaccctgtcgggcctttatccagctgtgggccttcgacgccgtgaagggcaaatgct
 gctgttcccctatggcgggtgccagggaatggaacaagtctactccgagaaagaatgccgcgagtactgtggcgtgcc
 aggcgacggggatgaggaactgctgcggtgtccacttgccctgccccgagctgctgggaggatcctctgttctctgttc
 ccccaaagcccaaggacacctgatgatctccggaccctgaagtgcctgctggtggtggtgatgtgtccacgagga
 tcccgaagtgaagtcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagtac
 aactccacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgaaggt
 gtccaacaaggccctgcctgcctccatcgaagaccatctccaaggccaagggccagccccgggaaccccagggtgtac
 aactgccccctagccgggaagagatgacaaagaaccagggtgtccctgacctgtctcgtgaagggattctacccctccgat
 atcgccgtggaatgggagtccaacggccagcctgagaacaactacaagaccacccccctgtgctggactccgacggctc
 attcttctgtactccaagctgacagtggacaagtcccgggtggcagcagggaacgtgttctcctgctccgtgatgcacgag
 gccctgcacaaccactacaccagaagtcctgtccctgagccccggc

SEQ ID NO:19 Trình tự protein UTI-Fc IgG1 3Ser link1

avlpqeeegsgggqlvtevtkkedscqlgysagpcmgmtsryfngtmacetfqyggcmgnngnnfvtekeclqter
 tvaacnlpivrgpcrafiqlwafdavkgkcvlfpyggcgngnkfysekecreycgvssvflfppkpkdtlmsirtpevt
 cvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpasiektis
 kakgqprepvytlppsreemtknqvsltlvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvdksr
 wqqgnvfscsvmhealhnhytqkslsisp

SEQ ID NO:20 Trình tự ADN UTI-Fc IgG1 3Ser link1

gctgtgctgcctcaggaagaggaaggctctggcggaggccagctcgtgaccgaagtaccaagaaaggactcctgcc
 agctgggctactctgccggcccttgatgggcatgacctcccggtacttctacaacggcacctccatggcctgcgagacattc
 cagtacggcggctgcatgggcaacggcaacaactttgtgacagagaaagagtgcctgcagacctgcagaacctggccg
 cctgtaacctgcctatcgtgcggggaccctgtcgggcctttatccagctgtgggccttcgacgccgtgaagggcaaatgctg

gctgttcccctatggcggctgccagggaaatggaacaagttctactccgagaaagaatgccgcgagtactgtggcgtgtc
ctctgtgttctgttcccccaaagcccaaggacaccctgatgatctccggaccctgaagtacctgcgtgggtggat
gtgtccacgaggatcccgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagccca
gagaggaacagtacaactccactaccgggtggtgtccgtgtgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaagag
tacaagtgaaggtgtccaacaaggccctgcctgcctccatcgaaaagaccatctccaaggccaaggccagccccggg
aaccacaggtgtacacactgccccctagccgggaagagatgacaaagaaccaggtgtccctgacctgtctgtgaaggga
ttctaccctccgatatgccgtggaatgggagtgcaacggccagcctgagaacaactacaagaccacccccctgtgtg
gactccgacggctcatttctgtactccaagctgacagtggacaagtcccgggtggcagcagggaacgtgttctctgt
ccgtgatgcacgagggccctgcacaaccactacaccagaagtccctgtccctgagccccggc

SEQ ID NO:21 Trình tự protein UTI-Fc IgG1 3Ser K21S K22S

avlpqeeegsgggqlvtevtssedscqlgysagpcmgmtsryfyngtsmacetfgyggcmgnngnnfvtekeclqtrt
vaacnlpivrgpcrafiqlwafdavkgkcvlfpyggcqnngnkfysekecreycgvpgdgdeellrepkssdkthtcp
pcpapellggssvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvvs
vltvlhqdwlngkeykckvsnkalpasiectiskakgqprepqvylppsreemtknqvsltlvkgyfypsdiavewes
ngqpennykttpvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslsisp

SEQ ID NO:22 Trình tự ADN UTI-Fc IgG1 3Ser K21S K22S

gctgtgtgcctcaggaagaggaaggctctggcggaggccagctcgtgaccgaagtacacctctccaggactcctgcca
gtgggctactctgccggccctgtatggcatgacctccggctacttctacaacggcacctccatggcctgcgagacattcc
agtacggcggctgcatgggcaacggcaacaactttgtacagagaaagagtgcctgcagacctgcagaaccgtggccgc
ctgtaacctgcctatcgtgcggggaccctgtcgggcctttatccagctgtgggccttcgacgccgtgaagggcaaatgcgtg
ctgttcccctatggcggctgccagggaaatggaacaagttctactccgagaaagaatgccgcgagtactgtggcgtgcca
ggcgacggggatgaggaactgtgcgggagcccaacttccgacaagaccatacctgtccacctgtccctgccccga
gctgtgtgggaggatcctctgtgttctgttcccccaaagcccaaggacaccctgatgatctccggaccctgaagtacc
tgcgtgggtggatgtgtccacgaggatcccgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgcc
aagaccaagcccagagaggaacagtacaactccactaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggct
gaacggcaaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggccctgcctgcctccatcgaaaagaccatctccaaggccaag
ggccagccccgggaacccaggtgtacacactgccccctagccgggaagagatgacaaagaaccaggtgtccctgacct
gtctgtgaagggttctaccctccgatatgccgtggaatgggagtgcaacggccagcctgagaacaactacaagacca
ccccctgtgtgactccgacggctcatttctgtactccaagctgacagtggacaagtcccgggtggcagcaggga
acgtgttctctgtcctgatgcacgagggccctgcacaaccactacaccagaagtccctgtccctgagccccggc

SEQ ID NO:23 Trình tự protein UTI-Fc IgG1 3Ser d2

avlpqeeegsgggqlvtevtkktvaacnlpivrgpcrafiqlwafdavkgkcvlfpyggcqnknkfysekecreycg
vpgdgdellrepkssdkthtppcpapellggssvflfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgv
evhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpasiektiskakgqprepvytlppsreemtk
nqvsltelvkgfypsdiavewesngqpennyktpvpldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytq
kslsisp

SEQ ID NO:24 Trình tự ADN UTI-Fc IgG1 3Ser d2

gctgtgctgcctcaggaagaggaaggctctggcggaggccagctcgtgaccgaagtgaaccaagaaaaccgtggccgct
gtaacctgcctatcgtgcggggaccctgtcgggcctttatccagctgtgggccttcgacgccgtgaagggcaaatgcgtgct
gttccccataggcggctgccagggaatggaaacaagttctactccgagaaagaatgccgcgagtactgtggcgtgccag
gcgacgggggatgaggaactgctgcgggagcccaaatctccgacaagaccatacctgtccacctgccccgag
ctgctgggaggatcctctgtgttctgttccccaaagcccaaggacacctgatgatctccggacctgaagtacct
gcgtggtggtgatgtgtccacgaggatcccgaagtgaagttaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgcc
aagaccaagcccagagaggaacagtacaactccacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggct
gaacggcaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggccctgctgcctccatcgaaaagaccatctccaaggccaag
ggccagccccgggaaccccaggtgtacacactgccccctagccgggaagagatgacaaagaaccaggtgtccctgacct
gtctcgtgaagggttctacctccgatatcgccgtggaatgggagtgcaacggccagcctgagaacaactacaagacca
ccccctgtgtcggactccgacggctcattctctgtactccaagctgacagtggacaagtccgggtggcagcagggca
acgtgttctcctgtcctgatgcacgaggccctgcacaaccactacaccagaagtccctgtccctgagccccggc

SEQ ID NO:25 Trình tự protein UTI-Fc IgG1 3Ser d1

avlpqeeegsgggqlvtevtkkedscqlgysagpcmgmtsryfyngtsmacetfpyggcmgnngnnfvtekeclqter
epkssdkthtppcpapellggssvflfppkpkdtlmsrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpre
eqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpasiektiskakgqprepvytlppsreemtknqvsltelvkgf
ypsdiavewesngqpennyktpvpldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslsisp

SEQ ID NO:26 Trình tự ADN UTI-Fc IgG1 3Ser d1

gctgtgctgcctcaggaagaggaaggctctggcggaggccagctcgtgaccgaagtgaaccaagaaaggactcctgcc
agctgggctactctgccggcccttgatgggcatgacctcccggtactctacaacggcacctccatggcctgcgagacattc
cagtacggcggctgcatgggcaacggcaacaactttgtgacagagaaagagtgcctgcagacctgcagagagcccaat
cttccgacaagaccatacctgtccacctgccccgagctgctgggaggatcctctgtgttctgttccccaaag
cccaaggacacctgatgatctccggacctgaagtacctgcgtggtggtgatgtgtccacgaggatcccgaagt
aagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaactccacta
ccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaagagtacaagtgaaggtgtccaacaagg

ccctgcctgcctccatcgaaaagaccatctccaaggccaagggccagccccgggaaccccaggtgtacacactgccccct
agccgggaagagatgacaaagaaccaggtgtccctgacctgtctcgtgaagggtattctaccctccgatatgccgtggaa
tgggagtgcaacggccagcctgagaacaactacaagaccacccccctgtgctggactccgacggctcattcttctgtact
ccaagctgacagtggacaagtcccggtggcagcagggaacgtgttctcctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaac
cactacaccagaagtcctgtccctgagccccggc

SEQ ID NO:27 Trình tự protein mUTI-mFc mIgG1

avlpqesegsgteplitgtlkkedscqlnysegpcldmqeryyyngasmacetfgyggclngnnfisekdclqtertia
acnlpivqgpcrafiklwafdaaqkciqfhyggckngnkyfysekekeycgvpgdgyeelirskivprdcgckpci
ctvpevssvffppkpkdvltiltpkvctvvddiskddpevqfswfvddvevhtaqtqpreeqfnstfrsvselpimhq
dwlngkefkcrvnsaafpapiektisktkgrpkapqvytipppkeqmakdkvsltcmidffpeditvewqwnqppa
enykntqpimdtgtsyfvysklnvqksnweagntftcslheglhnhhtekslshspgk

SEQ ID NO:28 Trình tự ADN mUTI-mFc mIgG1

gcagtgtgccccaaagagagtgaggggtcagggactgagccactaataactgggaccctcaagaaagaagactcctgcc
agctcaattactcagaaggccccctgcctagggatgcaagagaggtattactacaacggcgcttccatggcctgcgagacctt
tcaatatgggggtgcctaggcaacggcaacaacttcattctctgagaaggactgtctgcagacatgtcggaccatagcggcc
tgcaatctccccatagtcgaaggccccctgccgagccttcataaagctctgggcatttgatgcagcacaagggaagtgcattc
aattccactacgggggctgcaaaggcaacggcaacaattctactctgagaaggaatgcaaagagtactgtggagtcctg
gtgatgggtacgaggaactaatacgcagtaaaatcgtgcctcgggactgcggctgcaagccctgcattgcaccgtgccccg
aggtgtcctccgtgttcattctcccaccaagcccaaggacgtgtgaccatcacctgacccccaaagtacgtgcgtggt
ggtggacatctccaaggacgacccccgaggtgcagttcagttggttcgtggacgacgtggaagtgcacaccgcccagacc
agcccagagaggaacagttcaactccaccttcagatccgtgtccgagctgcccattatgcaccaggactggctgaacggc
aaagagttcaagtgcagagtgaactccgcgccttcccagccccatcgaaaagaccatctccaagaccaagggcagacc
caaggccccccaggtgtacaccatccccccacccaaagaacagatggccaaggacaagggtgcctgacctgcattgatca
ccgatttcttcccagaggacatcacctggaatggcagtggaacggccagcccgcgagaactacaagaacaccagcc
catcatggacaccgacggctcctacttcgtgtactccaagctgaacgtgcagaagtccaactgggaggccggcaacacctt
cacctgtagcgtgctgcacgagggcctgcacaaccaccacaccgagaagtcctgtccactccccggcaag

SEQ ID NO:29 Trình tự protein Fc IgG1 3Ser UTI

epkssdkthtppcpapellggssvflfppkpkdtlmisrtpcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpre
eqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpasiektiskakgqprepqvylppsreemtknqvslclvkf
ypsdiafewesngqpennyktpvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhhealhnhytqkslslspgkkg
gsgsgggsggggsavlpqeeegsgggqlvtevtlkedscqlgysagpcmgmtsfyngtmacetfgyggcmgn

gnnfvtekeclqtcrtaacnlpivrgpcrafiqlwafdavkgkcvlfpypggcqnngnkfysekecreycgvpdgde
ellr

SEQ ID NO:30 Trình tự ADN Fc IgG1 3Ser UTI

gagcccaaattccgacaagaccatacctgtccaccttgccctgccccgagctgctgggaggatcctctgtgttcctgtt
cccccaaagcccaaggacacctgatgatctcccgacccctgaagtacctgctgggtggatgtgtccacagagg
atccgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagta
caactccacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaagagtacaagtgaaggt
gtccaacaaggccctgcctgcctccatcgaaaagaccatctccaaggccaagggccagccccgggaacccaggtgtac
acactgccccctagccgggaagagatgacaaagaaccaggtgtccctgacctgtctcgtgaagggattctacctccgat
atcgccgtggaatgggagtccaacggccagcctgagaacaactacaagaccacccccctgtgctggactccgacggctc
attcttctgtactccaagctgacagtggaagaagtcctgggtggcagcagggcaacgtgttctctgctccgtgatgcacgag
gccctgcacaaccactacaccagaagtccctgtccctgagccccggcaagggaggtggtggatcaggaggtggaggtt
ccggtggcggaggatcagctgtgctgcctcaggaagaggaaggctctggcggaggccagctcgtgaccgaagtgacca
agaaagaggactcctgccagctgggtactctgccggcccttgatgggcatgacctccgggtacttctacaacggcacctc
catggcctgcgagacattccagtacggcggctgcatgggcaacggcaacaactttgtgacagagaaagagtgctgcaga
cctgcagaaccgtggccgcctgtaacctgcctatcgtcggggaccctgtcgggcctttatccagctgtgggccttcgacgc
cgtgaagggcaaatgcgtgctgttcccctatggcggctgccagggaatggaacaagttctactccgagaaagaatgccg
cgagtactgtggcgtgccaggcgacggggatgaggaactgctgcgg

SEQ ID NO:31 Trình tự protein hUTI

avlpq eeegsgggql vtevtkkeds cqlgysagpc
mgmtsryfyn gtsmacetfq yggcmngnfn ftekeclqt crtvaacnlp ivrgpcrafi
qlwafdavkg kcvlfpypggc qnngnkfyse kecreycgvp gdgdeellrf sn

SEQ ID NO:32 Trình tự preproprotein AMBP

mrsllgallll lsacavlsag pvptppdniq vqenfnisri ygwynlaig stcpwlkkim
drmtvstlrvl gegateaeis mtstrwrkgv ceetsgayek tdtgkflyh kskwnitmes
yvvhtnydey aifltkkfsr hhgptitakl ygrapqlret llqdfvrvaq gvgipedsif
tmadrgecvp geqepepili prvravlpq eeegsgggql vtevtkkeds cqlgysagpc
mgmtsryfyn gtsmacetfq yggcmngnfn ftekeclqt crtvaacnlp ivrgpcrafi
qlwafdavkg kcvlfpypggc qnngnkfyse kecreycgvp gdgdeellrf sn

SEQ ID NO:33

SGGGGS

SEQ ID NO:34

SGGGGS

SEQ ID NO: 35

SGGGGS

SEQ ID NO:36

SGGGGS

SEQ ID NO:37

SGGGGS

SEQ ID NO:38

SGGGGS

SEQ ID NO:39

SGGGGS

SEQ ID NO:40

SGGGGS

SEQ ID NO:41

SGGGGS

SEQ ID NO:42

SGGGGS

SEQ ID NO:43

GS

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Protein dung hợp chất ức chế trypsin niệu (UTI) chứa trình tự SEQ ID NO:1.
2. Protein dung hợp UTI được phân lập chứa trình tự SEQ ID NO:1.
3. Protein dung hợp UTI theo điểm 1 hoặc 2, trong đó protein dung hợp UTI này là dime chứa các vùng Fc được liên kết cộng hóa trị.
4. Dược phẩm chứa protein dung hợp UTI theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, và tá dược được dụng.
5. Axit nucleic chứa trình tự polynucleotit mã hóa SEQ ID NO:1.
6. Vector biểu hiện chứa axit nucleic theo điểm 5.
7. Tế bào chủ tái tổ hợp chứa vector biểu hiện theo điểm 6.
8. Phương pháp sản xuất protein dung hợp UTI, phương pháp này bao gồm bước đưa tế bào chủ tái tổ hợp theo điểm 7 vào môi trường sinh trưởng sao cho protein dung hợp tái tổ hợp được biểu hiện, và phân lập protein dung hợp này từ tế bào hoặc môi trường sinh trưởng.
9. Protein dung hợp UTI chứa các axit amin từ 1 đến 149 của SEQ ID NO:1 được liên kết với vùng Fc kiểu đại, trong đó vùng Fc này không chứa vùng globulin miễn dịch của vùng hằng định thứ nhất, hoặc đoạn của nó mà không chứa một hoặc nhiều vị trí thế.
10. Dime chứa hai protein dung hợp UTI theo điểm 9 được phân lập, trong đó các vùng Fc hoặc đoạn của chúng, được liên kết cộng hóa trị.
11. Dược phẩm chứa protein dung hợp UTI theo điểm 1, 3, hoặc 9, hoặc dime theo điểm 10, và tá dược được dụng.
12. Axit nucleic mã hóa protein dung hợp UTI theo điểm 1, 3, hoặc 9, hoặc dime theo điểm 10.
13. Vector biểu hiện chứa axit nucleic theo điểm 12.
14. Tế bào chủ tái tổ hợp chứa vector biểu hiện theo điểm 13.
15. Phương pháp sản xuất protein dung hợp UTI, bao gồm bước đưa tế bào chủ tái tổ hợp theo điểm 14 vào môi trường sinh trưởng sao cho protein dung hợp tái tổ hợp được biểu hiện, và phân lập protein dung hợp tái tổ hợp từ tế bào hoặc môi trường sinh trưởng.

16. Phương pháp sản xuất protein dung hợp UTI, trong đó protein dung hợp UTI theo điểm 1, 3 hoặc 9, hoặc dime theo điểm 10 được tạo ra trong động vật chuyển gen.
17. Protein dung hợp UTI theo điểm 1, 3, hoặc 9, trong đó vùng Fc được chọn từ nhóm gồm các vùng Fc của IgG1, IgG2 và IgG4.
18. Protein dung hợp theo điểm 1, 3, hoặc 9, trong đó vùng Fc là vùng Fc của IgG1.
19. Dime theo điểm 10, trong đó vùng Fc được chọn từ nhóm gồm các vùng Fc của IgG1, IgG2 và IgG4.
20. Dime theo điểm 10, trong đó vùng Fc là vùng Fc của IgG1.
21. Tế bào chủ tái tổ hợp theo điểm 7 hoặc 14, trong đó tế bào này được chọn từ nhóm gồm tế bào động vật có vú, tế bào côn trùng, tế bào E. coli, tế bào nấm men, và tế bào thực vật.
22. Tế bào chủ tái tổ hợp theo điểm 21, trong đó tế bào động vật có vú được chọn từ nhóm gồm tế bào trứng chuột đồng Trung Quốc (CHO), tế bào HEK 293, tế bào NSO, tế bào HeLa, tế bào thận chuột đồng non (BHK), tế bào thận khí (COS) và tế bào caxinom tế bào gan người.

FIG. 1

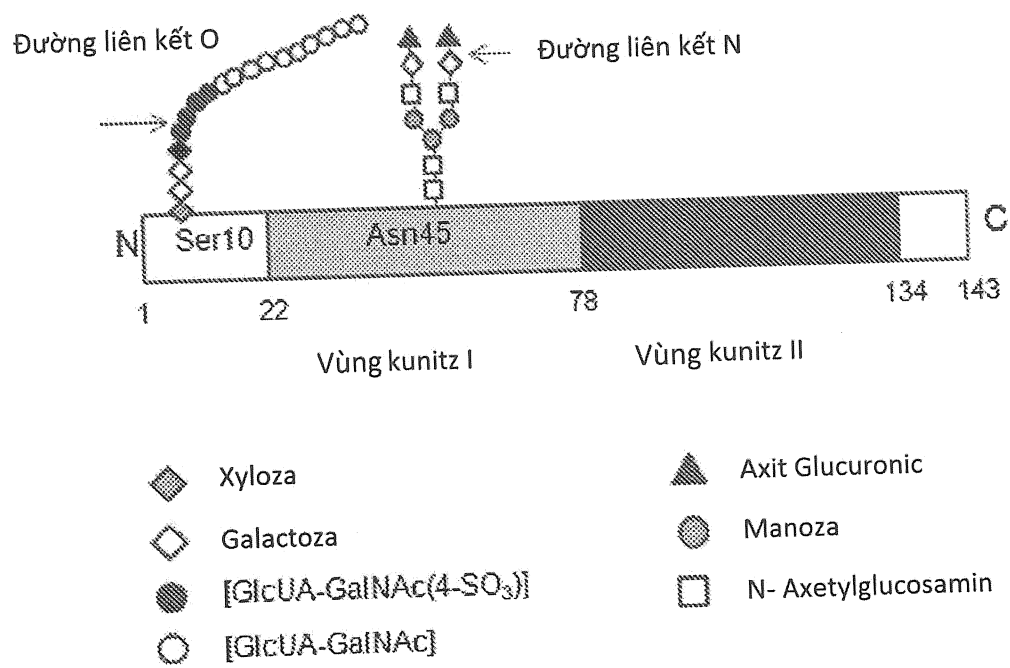
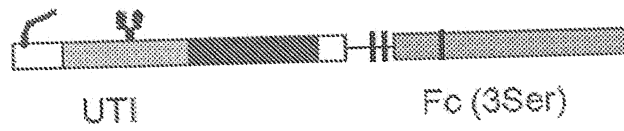


FIG. 2

UTI - Fc (3Ser)

	UTI										Cầu liên kết								
Cầu liên kết 2	P	G	D	G	D	E	E	L	L	R	E	P	K	S		D	K	T	H
Cầu liên kết 1	P	G	D	G	D	E	E	L	L	G	S	E	G	G	G	D	K	T	H

FIG. 3

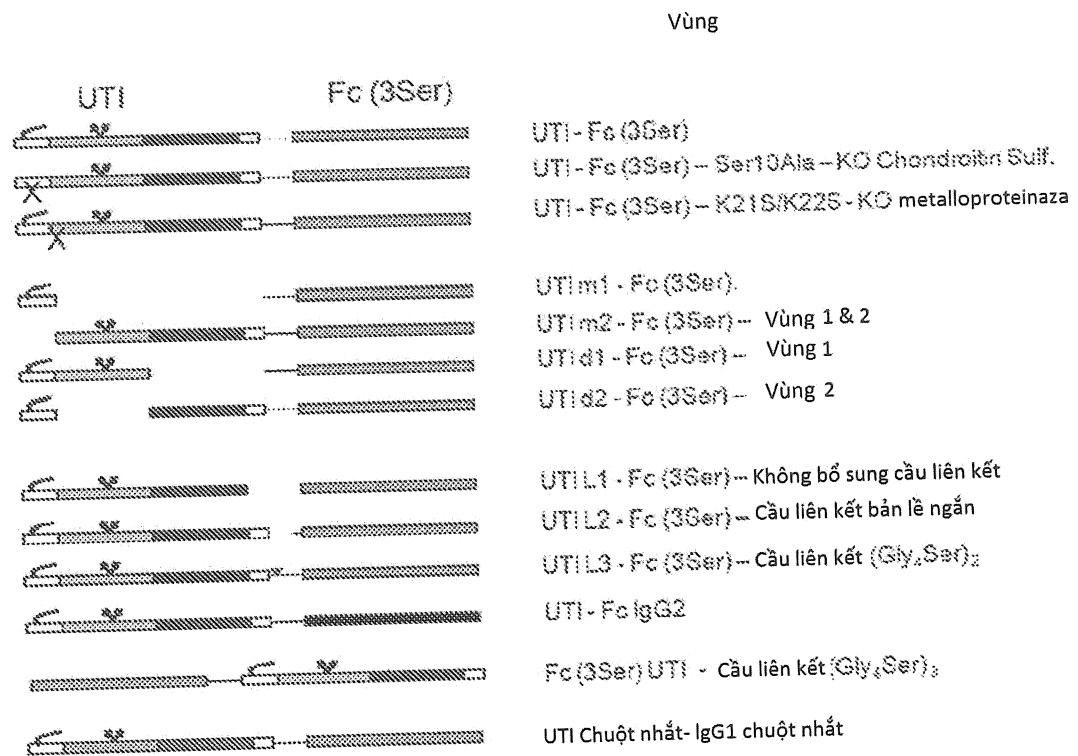
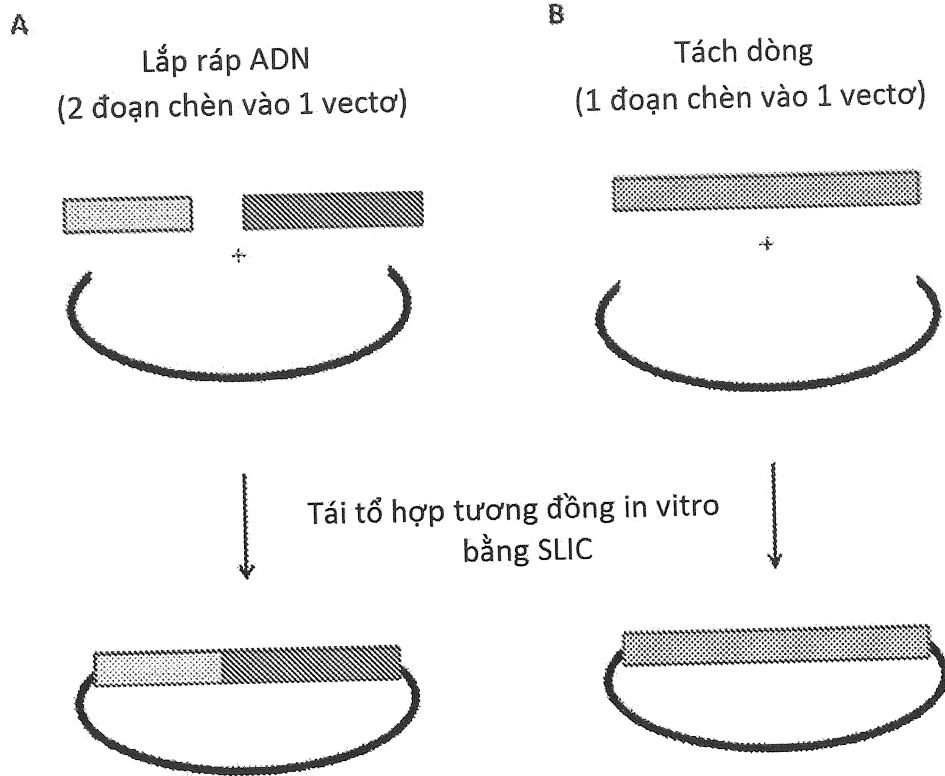


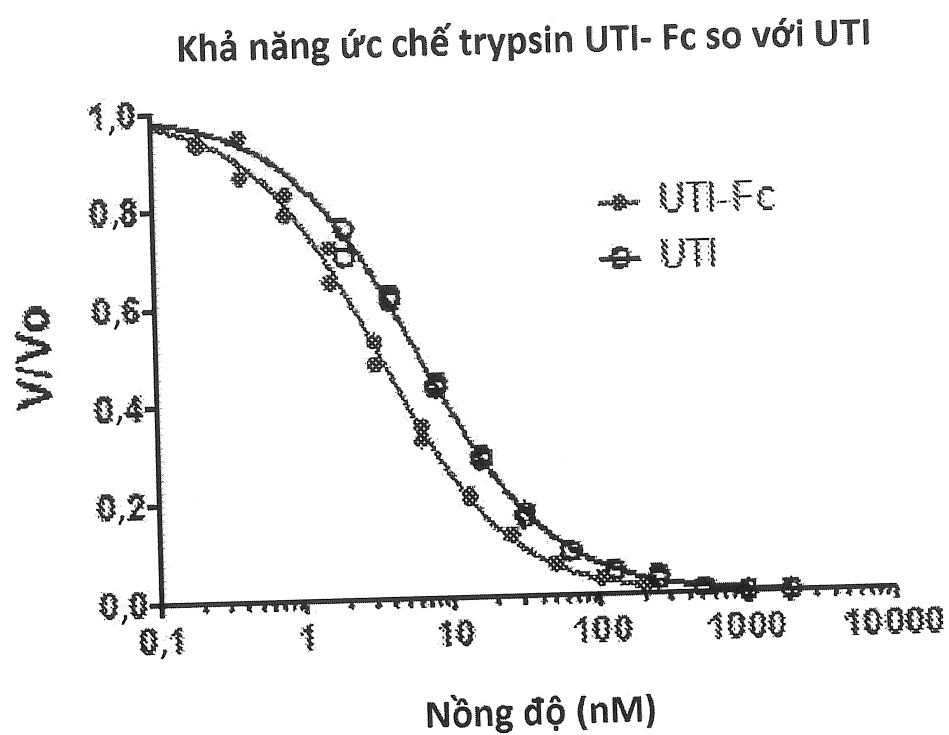
FIG. 4

Lắp ráp ADN và tách dòng bằng SLIC



U MZ and Elledge SJ (2007), Harnessing homologous recombination *in vitro* to generate recombinant DNA via SLIC. *Nature Methods* 4(3):251-256.

FIG. 5



$$Y = \text{Top} / (1 + ((X/IC50)^{\text{Hill}}))$$

	UTI-Fc	UTI
Đỉnh	= 1,000	= 1,000
IC50	3,327	6,088
Độ dốc	1,009	0,9666

FIG. 6

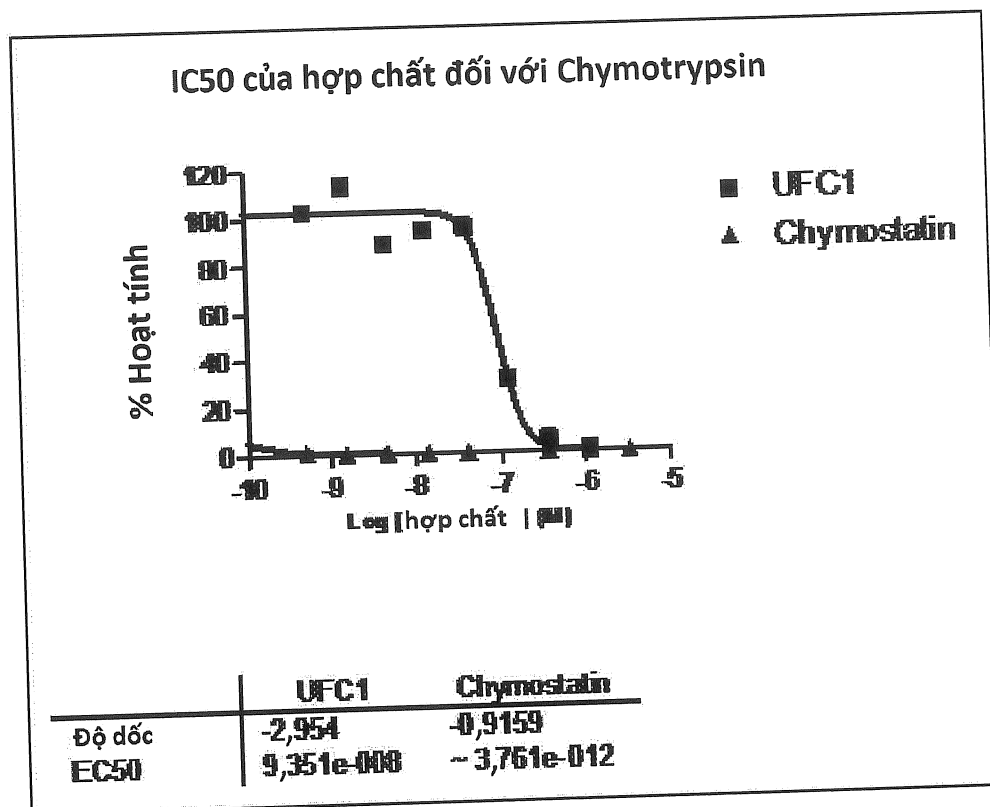
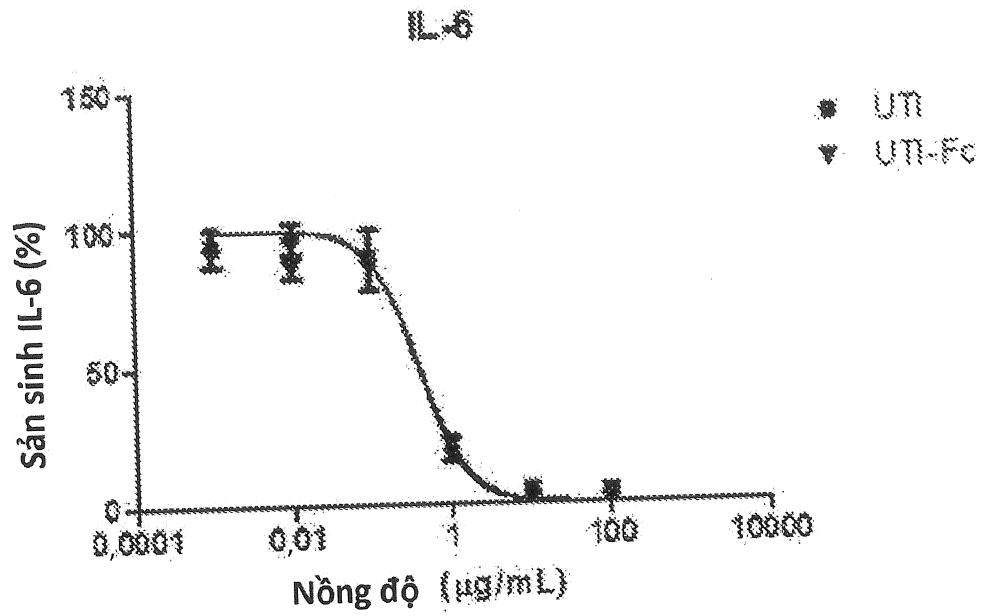


FIG. 7

IC50 của hợp chất

Đích	UTI-Fc (UFC1)	IC50 của đối chứng I (M)	Hợp chất đối chứng
Caspaza 1	1,33E-06	7,30E-08	IETD-CHO
Cathepsin C	5,48E-06	2,29E-07	E 64
Cathepsin G	> 1,0E-05	6,63E-07	Chymostatin
Chymotrypsin	9,35E-08	< 5,08E-10	Chymostatin
Papain	3,29E-06	< 5,08E-10	E64
Plasmin	6,63E-08	6,14E-08	Gabexat Mesylat
Proteinaza K		8,71E-08	Chất ức chế Proteinaza K
TACE/ADAM17	> 1,0E-05	1,69E-08	CM0001
Thrombin		2,60E-06	Gabexat Mesylat
Tryptaza beta II		1,61E-09	Gabexat Mesylat

FIG. 8



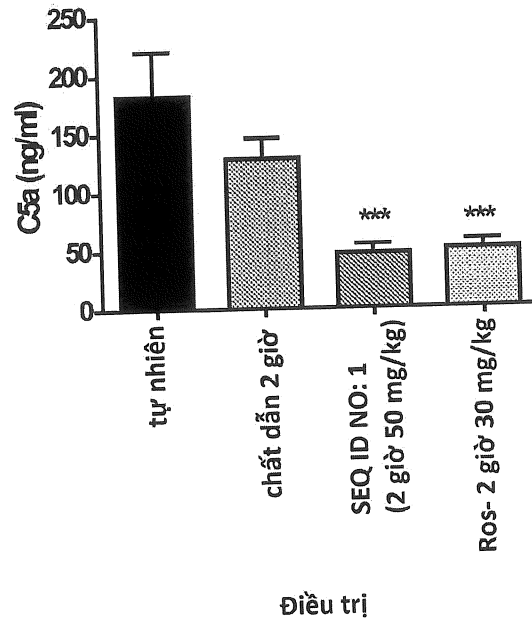
IC ₅₀ Giá trị (µg/mL)		
	UTI	UTI-Fc
Sản sinh IL-6	0,40	0,41

FIG. 9

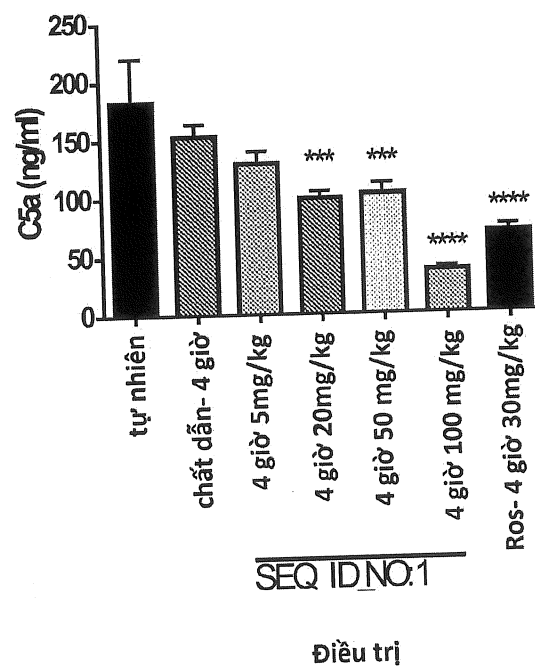
Tên Protein	PFR #	Hiệu giá ($\mu\text{g/ml}$)	Nồng độ (mg/ml)	Thể tích (ml)	Hiệu suất (mg)	Thể tích tải (ml)	%thu hồi
UTI-Fc(3Ser)	711	45	2,8	2	5,50	200	60,7
UTI-Fc(3Ser)-Ser10Ala	712	52	3,4	2	6,75	200	65,5
UTI-Fc(3Ser)-K21S/K22S	713	40	2,3	2	4,67	200	58,1
UTIm1-Fc(3Ser)	714	51	2,9	2	5,71	200	56,5
UTIm2-Fc(3Ser)	715	2					
UTId1-Fc(3Ser)	716	41	2,5	2	4,94	200	60,7
UTId2-Fc(3Ser)	717	52	2,7	2	5,42	200	52,3
UTIL1-Fc(3Ser)	718	33	2,1	2	4,18	200	62,7
UTIL2-Fc(3Ser)	719	40	2,4	2	4,80	200	60,3
UTIL3-Fc(3Ser) (Gly4Ser)2 cầu liên kết	720	38	2,5	2	4,93	200	64,7
UTI-Fc(IgG2)	721	39	2,5	2	5,06	200	64,3
Fc(3Ser)-UTI(Gly4Ser)3 cầu liên kết	722	31	1,9	2	3,85	200	62,8
UTI chuột nhắt- IgG1 chuột nhắt	723	4					

FIG. 10

Hiệu quả của SEQ ID NO:1 lên C5a do LPS gây ra ở chuột nhắt C3H
(giá trị trung bình + sai số chuẩn của giá trị trung bình, n = 8)



Hiệu quả của SEQ ID NO:1 lên C5a do LPS gây ra ở chuột nhắt C3H
(giá trị trung bình + sai số chuẩn của giá trị trung bình, n = 8)



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> TAKEDA CALIFORNIA, INC.

<120> PROTEIN DUNG HỢP CHẤT ỨC CHẾ TRYPSIN NIỆU (UTI), PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA PROTEIN NÀY

<130> UTI-5001-WO

<140>

<141>

<150> 61/943,617

<151> 2014-02-24

<160> 48

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 375

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo:polypeptit tổng hợp"

<400> 1

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

Thr	Glu	Val	Thr	Lys	Lys	Glu	Asp	Ser	Cys	Gln	Leu	Gly	Tyr	Ser	Ala
		20						25					30		

Gly	Pro	Cys	Met	Gly	Met	Thr	Ser	Arg	Tyr	Phe	Tyr	Asn	Gly	Thr	Ser
		35					40					45			

Met	Ala	Cys	Glu	Thr	Phe	Gln	Tyr	Gly	Gly	Cys	Met	Gly	Asn	Gly	Asn
	50					55				60					

Asn	Phe	Val	Thr	Glu	Lys	Glu	Cys	Leu	Gln	Thr	Cys	Arg	Thr	Val	Ala
65					70					75					80

Ala	Cys	Asn	Leu	Pro	Ile	Val	Arg	Gly	Pro	Cys	Arg	Ala	Phe	Ile	Gln
				85					90					95	

Leu	Trp	Ala	Phe	Asp	Ala	Val	Lys	Gly	Lys	Cys	Val	Leu	Phe	Pro	Tyr
		100						105					110		

Gly	Gly	Cys	Gln	Gly	Asn	Gly	Asn	Lys	Phe	Tyr	Ser	Glu	Lys	Glu	Cys
		115					120					125			

Arg Glu Tyr Cys Gly Val Pro Gly Asp Gly Asp Glu Glu Leu Leu Gly
 130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 145 150 155 160

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 165 170 175

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 180 185 190

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 195 200 205

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 210 215 220

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 225 230 235 240

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 245 250 255

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 260 265 270

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 275 280 285

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 290 295 300

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 305 310 315 320

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 325 330 335

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 340 345 350

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 355 360 365

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
370 375

<210> 2

<211> 1125

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 2

gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggctct ggcggaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
60

aagaaagagg actcctgcca gctgggctac tctgccggcc cttgtatggg catgacctcc
120

cggctacttct acaacggcac ctccatggcc tgcgagacat tccagtacgg cggctgcatg
180

ggcaacggca acaactttgt gacagagaaa gaggcctgc agacctgcag aaccgtggcc
240

gcctgtaacc tgcctatcgt gcggggaccc tgcggggcct ttatccagct gtgggccttc
300

gacgccgtga agggcaaagt cgtgctgttc ccctatggcg gctgccaggg aaatggaaac
360

aagttctact ccgagaaaga atgccgcgag tactgtggcg tgccaggcga cggggatgag
420

gaactgctgg gatcaggcgg cggaggcgac aagaccata cctgtccacc ttgccctgcc
480

cccagctgc tgggaggacc ttctgtgttc ctgttcccc caaagccaa ggacacctg
540

atgatctccc ggacctctga agtgacctgc gtgggtggtg atgtgtcca cgaggatccc
600

gaagtgaagt tcaattggtg cgtggacggc gtggaagtgc acaacgcca gaccaagccc
660

agagaggaac agtacaactc cacctaccgg gtggtgtccg tgctgaccgt gctgcaccag
720

gattggctga acggcaaaga gtacaagtgc aaggtgtcca acaaggccct gcctgcccc
780

atcgaaaaga ccatctccaa ggccaaggcc cagccccggg aaccccaggt gtacacactg
840

ccccctagcc gggaagagat gacaaagaac cagggtgtccc tgacctgtct cgtgaaggga
900

ttctaccct ccgatatcgc cgtggaatgg gaggccaacg gccagcctga gaacaactac
960

aagaccaccc cccctgtgct ggactccgac ggctcattct tcctgtactc caagctgaca
1020

gtggacaagt cccggtggca gcagggcaac gtgttctcct gctccgtgat gcacgaggcc
1080

ctgcacaacc actacaccca gaagtccttg tccctgagcc ccggc
1125

<210> 3

<211> 375

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo:polypeptit tổng hợp"

<400> 3

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

Thr	Glu	Val	Thr	Lys	Lys	Glu	Asp	Ser	Cys	Gln	Leu	Gly	Tyr	Ser	Ala
			20					25					30		

Gly	Pro	Cys	Met	Gly	Met	Thr	Ser	Arg	Tyr	Phe	Tyr	Asn	Gly	Thr	Ser
		35					40					45			

Met	Ala	Cys	Glu	Thr	Phe	Gln	Tyr	Gly	Gly	Cys	Met	Gly	Asn	Gly	Asn
	50					55					60				

Asn	Phe	Val	Thr	Glu	Lys	Glu	Cys	Leu	Gln	Thr	Cys	Arg	Thr	Val	Ala
65					70					75					80

Ala	Cys	Asn	Leu	Pro	Ile	Val	Arg	Gly	Pro	Cys	Arg	Ala	Phe	Ile	Gln
				85					90					95	

Leu	Trp	Ala	Phe	Asp	Ala	Val	Lys	Gly	Lys	Cys	Val	Leu	Phe	Pro	Tyr
			100					105					110		

Gly	Gly	Cys	Gln	Gly	Asn	Gly	Asn	Lys	Phe	Tyr	Ser	Glu	Lys	Glu	Cys
		115					120					125			

Arg	Glu	Tyr	Cys	Gly	Val	Pro	Gly	Asp	Gly	Asp	Glu	Glu	Leu	Leu	Arg
						135					140				

Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
145					150					155					160

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 165 170 175
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 180 185 190
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 195 200 205
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 210 215 220
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 225 230 235 240
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 245 250 255
 Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 260 265 270
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 275 280 285
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 290 295 300
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 305 310 315 320
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 325 330 335
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 340 345 350
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 355 360 365
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 370 375

<210> 4

<211> 1125

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo:polynucleotit tổng hợp"

<400> 4

gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggctct ggcggaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
60

aagaaagagg actcctgcca gctgggctac tctgccggcc cttgtatggg catgacctcc
120

cggctacttct acaacggcac ctccatggcc tgcgagacat tccagtacgg cggctgcatg
180

ggcaacggca acaactttgt gacagagaaa gagtgcctgc agacctgcag aaccgtggcc
240

gcctgtaacc tgctatcgt gcggggaccc tgtcgggcct ttatccagct gtgggccttc
300

gacgccgtga agggcaaagt cgtgctgttc ccctatggcg gctgccaggg aaatggaaac
360

aagttctact ccgagaaaga atgccgcgag tactgtggcg tgccaggcga cggggatgag
420

gaactgctgc gggagcccaa atcttccgac aagaccata cctgtccacc ttgccctgcc
480

cccgagctgc tgggaggatc ctctgtgttc ctgttcccc caaagcccaa ggacacctg
540

atgatctccc ggacctctga agtgacctgc gtggtggtgg atgtgtcca cgaggatccc
600

gaagtgaagt tcaattggta cgtggacggc gtggaagtgc acaacgcca gaccaagccc
660

agagaggaac agtacaactc cacctaccgg gtggtgtccg tgctgacctg gctgcaccag
720

gattggctga acggcaaaga gtacaagtgc aagggtgtcca acaaggccct gcctgcctcc
780

atcgaaaaga ccatctccaa ggccaagggc cagccccggg aaccccaggt gtacacactg
840

ccccctagcc gggaagagat gacaaagaac cagggtgtccc tgacctgtct cgtgaaggga
900

ttctacctct ccgatatcgc cgtggaatgg gagtccaacg gccagcctga gaacaactac
960

aagaccaccc cccctgtgct ggactccgac ggctcattct tcctgtactc caagctgaca
1020

gtggacaagt cccggtggca gcagggaac gtgttctcct gctccgtgat gcacgaggcc
1080

ctgcacaacc actacacca gaagtccctg tcctgagcc ccggc
1125

<210> 5
 <211> 370
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo:polypeptit tổng hợp"

 <400> 5
 Ala Val Leu Pro Gln Glu Glu Glu Gly Ser Gly Gly Gly Gln Leu Val
 1 5 10 15

 Thr Glu Val Thr Lys Lys Glu Asp Ser Cys Gln Leu Gly Tyr Ser Ala
 20 25 30

 Gly Pro Cys Met Gly Met Thr Ser Arg Tyr Phe Tyr Asn Gly Thr Ser
 35 40 45

 Met Ala Cys Glu Thr Phe Gln Tyr Gly Gly Cys Met Gly Asn Gly Asn
 50 55 60

 Asn Phe Val Thr Glu Lys Glu Cys Leu Gln Thr Cys Arg Thr Val Ala
 65 70 75 80

 Ala Cys Asn Leu Pro Ile Val Arg Gly Pro Cys Arg Ala Phe Ile Gln
 85 90 95

 Leu Trp Ala Phe Asp Ala Val Lys Gly Lys Cys Val Leu Phe Pro Tyr
 100 105 110

 Gly Gly Cys Gln Gly Asn Gly Asn Lys Phe Tyr Ser Glu Lys Glu Cys
 115 120 125

 Arg Glu Tyr Cys Gly Val Pro Gly Asp Gly Asp Glu Glu Leu Leu Arg
 130 135 140

 Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
 145 150 155 160

 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 165 170 175

 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 180 185 190

 Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Met Glu Val His

```

195                200                205

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

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
225                230                235                240

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
245                250                255

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

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
275                280                285

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
290                295                300

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
305                310                315                320

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
325                330                335

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
340                345                350

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
355                360                365

Gly Lys
370

<210> 6
<211> 1110
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo:polynucleotit tổng hợp"

<400> 6
gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggctct ggcggaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
60

```

aagaaagagg actcctgcca gctgggctac tctgccggcc cttgtatggg catgacctcc
120

cggctacttct acaacggcac ctccatggcc tgcgagacat tccagtacgg cggctgcatg
180

ggcaacggca acaactttgt gacagagaaa gagtgcctgc agacctgcag aaccgtggcc
240

gcctgtaacc tgcctatcgt gcggggaccc tgtcgggcct ttatccagct gtgggccttc
300

gacgccgtga agggcaaagt cgtgctgttc ccctatggcg gctgccaggg aaatggaaac
360

aagttctact ccgagaaaga atgccgcgag tactgtggcg tgccaggcga cggggatgag
420

gaactgctgc ggaaatcctg tgtcgagtgc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga
480

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctc
540

gaggtcacgt gcgtgggtggg ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg
600

tacgtggacg gcatggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac
660

agcacgttcc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcgtgcacc aggactggct gaacggcaag
720

gagtacaagt gcaagggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc
780

aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag
840

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc
900

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg
960

ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
1020

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca
1080

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa
1110

<210> 7

<211> 370

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 7

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

Thr Glu Val Thr Lys Lys Glu Asp Ser Cys Gln Leu Gly Tyr Ser Ala
 20 25 30

Gly Pro Cys Met Gly Met Thr Ser Arg Tyr Phe Tyr Asn Gly Thr Ser
 35 40 45

Met Ala Cys Glu Thr Phe Gln Tyr Gly Gly Cys Met Gly Asn Gly Asn
 50 55 60

Asn Phe Val Thr Glu Lys Glu Cys Leu Gln Thr Cys Arg Thr Val Ala
 65 70 75 80

Ala Cys Asn Leu Pro Ile Val Arg Gly Pro Cys Arg Ala Phe Ile Gln
 85 90 95

Leu Trp Ala Phe Asp Ala Val Lys Gly Lys Cys Val Leu Phe Pro Tyr
 100 105 110

Gly Gly Cys Gln Gly Asn Gly Asn Lys Phe Tyr Ser Glu Lys Glu Cys
 115 120 125

Arg Glu Tyr Cys Gly Val Pro Gly Asp Gly Asp Glu Glu Leu Leu Arg
 130 135 140

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
 145 150 155 160

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 165 170 175

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 180 185 190

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Met Glu Val His
 195 200 205

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

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

225 230 235 240
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 245 250 255
 Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 260 265 270
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 275 280 285
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 290 295 300
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
 305 310 315 320
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 325 330 335
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 340 345 350
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 355 360 365
 Gly Lys
 370

 <210> 8
 <211> 1110
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

 <400> 8
 gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggctct gccggaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
 60

 aagaaagagg actcctgcc a gctgggctac tctgccggcc cttgtatggg catgacctcc
 120

 cggtacttct acaacggcac ctccatggcc tcgcagacat tccagtacgg cggctgcatg
 180

 ggcaacggca acaactttgt gacagagaaa gaggcctgc agacctgcag aaccgtggcc
 240

gcctgtaacc tgccatcgtt gcggggaccc tgcggggcct ttatccagct gtgggccttc
300

gacgccgtga agggcaaagt cgtgctgttc ccctatggcg gctgccaggg aaatggaaac
360

aagttctact ccgagaaaga atgccgcgag tactgtggcg tgccaggcga cggggatgag
420

gaactgctgc ggaaatgttg tgcgagtgcc ccaccgtgcc cagcaccacc tgtggcagga
480

ccgtcagttc tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcctgatctc ccggaccctc
540

gaggtcacgt gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ccgaggtcca gttcaactgg
600

tacgtggacg gcatggaggt gcataatgcc aagacaaagc cacgggagga gcagttcaac
660

agcacgttcc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcgtgcacc aggactggct gaacggcaag
720

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaaggc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc
780

aaaaccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggaggag
840

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctaccc cagcgacatc
900

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac acctcccatg
960

ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
1020

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca
1080

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa
1110

<210> 9

<211> 375

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 9

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

Thr Glu Val Thr Lys Lys Glu Asp Ser Cys Gln Leu Gly Tyr Ser Ala

			20					25					30			
Gly	Pro	Cys	Met	Gly	Met	Thr	Ser	Arg	Tyr	Phe	Tyr	Asn	Gly	Thr	Ser	
		35					40					45				
Met	Ala	Cys	Glu	Thr	Phe	Gln	Tyr	Gly	Gly	Cys	Met	Gly	Asn	Gly	Asn	
	50					55					60					
Asn	Phe	Val	Thr	Glu	Lys	Glu	Cys	Leu	Gln	Thr	Cys	Arg	Thr	Val	Ala	
65					70					75					80	
Ala	Cys	Asn	Leu	Pro	Ile	Val	Arg	Gly	Pro	Cys	Arg	Ala	Phe	Ile	Gln	
				85					90					95		
Leu	Trp	Ala	Phe	Asp	Ala	Val	Lys	Gly	Lys	Cys	Val	Leu	Phe	Pro	Tyr	
		100						105					110			
Gly	Gly	Cys	Gln	Gly	Asn	Gly	Asn	Lys	Phe	Tyr	Ser	Glu	Lys	Glu	Cys	
		115					120					125				
Arg	Glu	Tyr	Cys	Gly	Val	Pro	Gly	Asp	Gly	Asp	Glu	Glu	Leu	Leu	Arg	
	130					135					140					
Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	
145					150					155					160	
Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Ser	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	
				165					170					175		
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	
		180						185					190			
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	
	195						200					205				
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	
	210					215					220					
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	
225					230					235					240	
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	
				245					250					255		
Leu	Pro	Ala	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	
			260					265					270			

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 275 280 285

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 290 295 300

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 305 310 315 320

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 325 330 335

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 340 345 350

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 355 360 365

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 370 375

<210> 10

<211> 1125

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 10

gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggcgca ggcggaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
 60

aagaaagagg actcctgcc gctgggctac tctgccggcc cttgtatggg catgacctcc
 120

cggtacttct acaacggcac ctccatggcc tgcgagacat tccagtacgg cggctgcatg
 180

ggcaacggca acaactttgt gacagagaaa gagtgccctgc agacctgcag aaccgtggcc
 240

gcctgtaacc tgcctatcgt gcggggaccc tgcggggcct ttatccagct gtgggccttc
 300

gacgccgtga agggcaaatg cgtgctgttc ccctatggcg gctgccaggg aaatggaaac
 360

aagttctact ccgagaaaga atgccgcgag tactgtggcg tgccaggcga cggggatgag
 420

gaactgctgc gggagcccaa atcttccgac aagaccata cctgtccacc ttgccctgcc
480

cccagagctgc tgggaggatc ctctgtgttc ctgttcccc caaagcccaa ggacaccctg
540

atgatctccc ggacccctga agtgacctgc gtggtggtgg atgtgtccca cgaggatccc
600

gaagtgaagt tcaattggta cgtggacggc gtggaagtgc acaacgcaa gaccaagccc
660

agagaggaac agtacaactc cacctaccgg gtggtgtccg tgctgaccgt gctgcaccag
720

gattggctga acggcaaaga gtacaagtgc aaggtgtcca acaaggcctt gcctgcctcc
780

atcgaaaaga ccatctccaa ggccaagggc cagccccggg aaccccaggt gtacacactg
840

ccccctagcc gggaagagat gacaaagaac caggtgtccc tgacctgtct cgtgaaggga
900

ttctaccctt ccgatatcgc cgtggaatgg gagtccaacg gccagcctga gaacaactac
960

aagaccaccc cccctgtgct ggactccgac ggctcattct tctgtactc caagctgaca
1020

gtggacaagt cccggtggca gcagggcaac gtgttctctt gctccgtgat gcacgaggcc
1080

ctgcacaacc actacaccca gaagtccctg tccctgagcc ccggc
1125

<210> 11

<211> 353

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 11

Glu	Asp	Ser	Cys	Gln	Leu	Gly	Tyr	Ser	Ala	Gly	Pro	Cys	Met	Gly	Met
1				5				10					15		

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

Gln	Tyr	Gly	Gly	Cys	Met	Gly	Asn	Gly	Asn	Asn	Phe	Val	Thr	Glu	Lys
		35					40					45			

Glu	Cys	Leu	Gln	Thr	Cys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Cys	Asn	Leu	Pro	Ile
	50					55						60			

Val	Arg	Gly	Pro	Cys	Arg	Ala	Phe	Ile	Gln	Leu	Trp	Ala	Phe	Asp	Ala		
65					70					75					80		
Val	Lys	Gly	Lys	Cys	Val	Leu	Phe	Pro	Tyr	Gly	Gly	Cys	Gln	Gly	Asn		
				85					90					95			
Gly	Asn	Lys	Phe	Tyr	Ser	Glu	Lys	Glu	Cys	Arg	Glu	Tyr	Cys	Gly	Val		
			100					105					110				
Pro	Gly	Asp	Gly	Asp	Glu	Glu	Leu	Leu	Arg	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp		
		115					120					125					
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly		
	130					135					140						
Ser	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile		
145					150					155					160		
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu		
				165					170					175			
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His		
			180					185					190				
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg		
		195					200					205					
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys		
	210					215					220						
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Ser	Ile	Glu		
225					230					235					240		
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr		
				245					250					255			
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu		
			260					265					270				
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp		
		275					280					285					
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val		
	290					295						300					

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 305 310 315 320

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 325 330 335

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 340 345 350

Gly

<210> 12

<211> 1059

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 12

gaggactcct gccagctggg ctactctgcc ggcccttgta tgggcatgac ctcccggtag
 60

ttctacaacg gcacctccat ggctgcgag acattccagt acggcggctg catgggcaac
 120

ggcaacaact ttgtgacaga gaaagagtgc ctgcagacct gcagaaccgt ggccgcctgt
 180

aacctgccta tcgtgcgggg accctgtcgg gcctttatcc agctgtgggc cttcgacgcc
 240

gtgaagggca aatgcgtgct gttcccctat ggcggtgcc agggaaatgg aaacaagtgc
 300

tactccgaga aagaatgccg cgagtactgt ggcggtgccag gcgacgggga tgaggaactg
 360

ctgcgggagc ccaaattctc cgacaagacc catacctgtc caccttgccc tgcccccgag
 420

ctgctgggag gatcctctgt gttcctgttc cccccaaagc ccaaggacac cctgatgato
 480

tcccggaccc ctgaagtgc ctgcgtggtg gtggatgtgt cccacgagga tcccgaagtg
 540

aagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa gtgcacaacg ccaagaccaa gccagagag
 600

gaacagtaca actccaccta ccgggtggtg tccgtgctga ccgtgctgca ccaggattgg
 660

ctgaacggca aagagtacaa gtgcaagggtg tccaacaagg cctgcctgc ctccatcgaa
720

aagaccatct ccaaggccaa gggccagccc cggaacccc aggtgtacac actgccccct
780

agccgggaag agatgacaaa gaaccagggtg tccctgacct gtctcgtgaa gggattctac
840

ccctccgata tcgccgtgga atgggagtcc aacggccagc ctgagaacaa ctacaagacc
900

cccccccctg tgctggactc cgacgggtca ttcttctgt actccaagct gacagtggac
960

aagtcccgggt ggcagcaggg caacgtgttc tctgtctcg tgatgcacga ggcctgcac
1020

aaccactaca ccagaagtc cctgtccctg agccccggc
1059

<210> 13

<211> 253

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 13

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

Thr	Glu	Val	Thr	Lys	Lys	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr
			20					25					30		

Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Ser	Ser	Val	Phe
		35					40					45			

Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
	50					55					60				

Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
65					70					75				80	

Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
				85					90					95	

Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
			100					105						110	

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

115 120 125

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

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
145 150 155 160

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
165 170 175

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
180 185 190

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
195 200 205

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
210 215 220

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
225 230 235 240

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
245 250

<210> 14
<211> 759
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 14
gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggctct ggcggaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
60
aagaaagagc ccaaattcttc cgacaagacc catacctgtc caccttgccc tgcccccgag
120
ctgctgggag gatacctctgt gttcctgttc cccccaagc ccaaggacac cctgatgac
180
tcccggaccc ctgaagtgac ctgcgtggtg gtggatgtgt cccacgagga tcccgaagt
240
aagttcaattggtacgtgga cggcgtggaa gtgcacaacg ccaagaccaa gccagagag
300

gaacagtaca actccaccta ccgggtggtg tccgtgctga ccgtgctgca ccaggattgg
360

ctgaacggca aagagtacaa gtgcaagggtg tccaacaagg ccctgcctgc ctccatcgaa
420

aagaccatct ccaaggccaa gggccagccc cggaacccc aggtgtacac actgccccct
480

agccgggaag agatgacaaa gaaccagggtg tccctgacct gtctcgtgaa gggattctac
540

ccctccgata tcgccgtgga atgggagttc aacggccagc ctgagaacaa ctacaagacc
600

acccccctg tgctggactc cgacgggtca ttcttctgt actccaagct gacagtggac
660

aagtcccgggt ggcagcaggg caacgtgttc tctgtctccg tgatgcacga ggccttgcac
720

aaccactaca cccagaagtc cctgtccctg agccccggc
759

<210> 15

<211> 384

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 15

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

Thr	Glu	Val	Thr	Lys	Lys	Glu	Asp	Ser	Cys	Gln	Leu	Gly	Tyr	Ser	Ala
			20					25					30		

Gly	Pro	Cys	Met	Gly	Met	Thr	Ser	Arg	Tyr	Phe	Tyr	Asn	Gly	Thr	Ser
		35					40					45			

Met	Ala	Cys	Glu	Thr	Phe	Gln	Tyr	Gly	Gly	Cys	Met	Gly	Asn	Gly	Asn
	50					55					60				

Asn	Phe	Val	Thr	Glu	Lys	Glu	Cys	Leu	Gln	Thr	Cys	Arg	Thr	Val	Ala
65					70					75					80

Ala	Cys	Asn	Leu	Pro	Ile	Val	Arg	Gly	Pro	Cys	Arg	Ala	Phe	Ile	Gln
				85					90					95	

Leu	Trp	Ala	Phe	Asp	Ala	Val	Lys	Gly	Lys	Cys	Val	Leu	Phe	Pro	Tyr
								100						105	110

Gly Gly Cys Gln Gly Asn Gly Asn Lys Phe Tyr Ser Glu Lys Glu Cys
 115 120 125

Arg Glu Tyr Cys Gly Val Pro Gly Asp Gly Asp Glu Glu Leu Leu Gly
 130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys
 145 150 155 160

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser
 165 170 175

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 180 185 190

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 195 200 205

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 210 215 220

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 225 230 235 240

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 245 250 255

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys
 260 265 270

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 275 280 285

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 290 295 300

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 305 310 315 320

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 325 330 335

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 340 345 350

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 355 360 365

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 370 375 380

<210> 16

<211> 1152

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 16

gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggctct ggcggaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
 60

aagaaagagg actcctgcc a gctgggctac tctgccggcc cttgtatggg catgacctcc
 120

cggctacttct acaacggcac ctccatggcc tgcgagacat tccagtacgg cggctgcatg
 180

ggcaacggca acaactttgt gacagagaaa gagtgccctgc agacctgcag aaccgtggcc
 240

gcctgtaacc tgcctatcgt gcggggaccc tgtcgggcct ttatccagct gtgggccttc
 300

gacgccgtga agggcaaatg cgtgctgttc ccctatggcg gctgccaggg aaatggaaac
 360

aagttctact ccgagaaaga atgccgcgag tactgtggcg tgccaggcga cggggatgag
 420

gaactgctgg gaggtggtgg atcagggtggc ggaggatcag agcccaaata ttccgacaag
 480

accataacct gtccaccttg ccctgcccc gagctgctgg gaggatcctc tgtgttctctg
 540

ttccccccaa agcccaagga caccctgatg atctcccga cccctgaagt gacctgcgtg
 600

gtggtggatg tgtccacga ggatcccgaa gtgaagttca attggtacgt ggacggcgtg
 660

gaagtgcaca acgccaagac caagcccaga gaggaacagt acaactccac ctaccgggtg
 720

gtgtccgtgc tgaccgtgct gcaccaggat tggctgaacg gcaaagagta caagtgcag
 780

gtgtccaaca aggccctgcc tgctccatc gaaaagacca tctccaaggc caagggccag
 840

ccccgggaac cccaggtgta cacactgccc cctagccggg aagagatgac aaagaaccag
900

gtgtccctga cctgtctcgt gaagggattc taccctccg atatcgccgt ggaatgggag
960

tccaacggcc agcctgagaa caactacaag accaccccc ctgtgctgga ctccgacggc
1020

tcattcttcc tgtactccaa gctgacagtg gacaagtccc ggtggcagca gggcaacgtg
1080

ttctcctgct ccgtgatgca cgaggccctg cacaaccact acaccagaa gtccctgtcc
1140

ctgagccccg gc
1152

<210> 17

<211> 365

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 17

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

Thr	Glu	Val	Thr	Lys	Lys	Glu	Asp	Ser	Cys	Gln	Leu	Gly	Tyr	Ser	Ala
			20					25					30		

Gly	Pro	Cys	Met	Gly	Met	Thr	Ser	Arg	Tyr	Phe	Tyr	Asn	Gly	Thr	Ser
		35					40					45			

Met	Ala	Cys	Glu	Thr	Phe	Gln	Tyr	Gly	Gly	Cys	Met	Gly	Asn	Gly	Asn
	50					55					60				

Asn	Phe	Val	Thr	Glu	Lys	Glu	Cys	Leu	Gln	Thr	Cys	Arg	Thr	Val	Ala
65					70					75				80	

Ala	Cys	Asn	Leu	Pro	Ile	Val	Arg	Gly	Pro	Cys	Arg	Ala	Phe	Ile	Gln
				85					90					95	

Leu	Trp	Ala	Phe	Asp	Ala	Val	Lys	Gly	Lys	Cys	Val	Leu	Phe	Pro	Tyr
		100						105					110		

Gly	Gly	Cys	Gln	Gly	Asn	Gly	Asn	Lys	Phe	Tyr	Ser	Glu	Lys	Glu	Cys
		115					120					125			

Arg Glu Tyr Cys Gly Val Pro Gly Asp Gly Asp Glu Glu Leu Leu Arg
 130 135 140
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe
 145 150 155 160
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 165 170 175
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 180 185 190
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 195 200 205
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 210 215 220
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 225 230 235 240
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 245 250 255
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 260 265 270
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 275 280 285
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 290 295 300
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 305 310 315 320
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 325 330 335
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 340 345 350
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 355 360 365

<210> 18

<211> 1095
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

 <400> 18
 gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggctct ggcggaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
 60

 aagaaagagg actcctgcca gctgggctac tctgccggcc cttgtatggg catgacctcc
 120

 cggctacttct acaacggcac ctccatggcc tgcgagacat tccagtacgg cggctgcatg
 180

 ggcaacggca acaactttgt gacagagaaa gagtgcctgc agacctgcag aaccgtggcc
 240

 gcctgtaacc tgcctatcgt gcggggaccc tgcggggcct ttatccagct gtgggccttc
 300

 gacgccgtga agggcaaata cgtgctgttc ccctatggcg gctgccaggg aatatgaaac
 360

 aagttctact ccgagaaaga atgccgcgag tactgtggcg tgccaggcga cggggatgag
 420

 gaactgctgc ggtgtccacc ttgccctgcc cccgagctgc tgggaggatc ctctgtgttc
 480

 ctgttcccc caaagcccaa ggacacctg atgatctccc ggacctga agtgacctgc
 540

 gtgggtgggg atgtgtccca cgaggatccc gaagtgaagt tcaattggta cgtggacggc
 600

 gtggaagtgc acaacgcaa gaccaagccc agagaggaac agtacaactc cacctaccgg
 660

 gtgggtgccc tgctgaccgt gctgcaccag gattggctga acggcaaaga gtacaagtgc
 720

 aagggtgcca acaaggccct gcctgcctcc atcgaaaaga ccctctccaa ggccaagggc
 780

 cagccccggg aaccccagggt gtacacactg cccctagcc gggaagagat gacaaagaac
 840

 cagggtgccc tgacctgtct cgtgaaggga ttctacctc ccgatatgc cgtggaatgg
 900

 gagtccaacg gccagcctga gaacaactac aagaccaccc cccctgtgct ggactccgac
 960

 ggctcattct tcctgtactc caagctgaca gtggacaagt cccggtggca gcagggaac
 1020

gtgtttctcct gctccgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacaccca gaagtccttg
1080

tccctgagcc ccggc
1095

<210> 19
<211> 343
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 19
Ala Val Leu Pro Gln Glu Glu Glu Gly Ser Gly Gly Gly Gln Leu Val
1 5 10 15

Thr Glu Val Thr Lys Lys Glu Asp Ser Cys Gln Leu Gly Tyr Ser Ala
20 25 30

Gly Pro Cys Met Gly Met Thr Ser Arg Tyr Phe Tyr Asn Gly Thr Ser
35 40 45

Met Ala Cys Glu Thr Phe Gln Tyr Gly Gly Cys Met Gly Asn Gly Asn
50 55 60

Asn Phe Val Thr Glu Lys Glu Cys Leu Gln Thr Cys Arg Thr Val Ala
65 70 75 80

Ala Cys Asn Leu Pro Ile Val Arg Gly Pro Cys Arg Ala Phe Ile Gln
85 90 95

Leu Trp Ala Phe Asp Ala Val Lys Gly Lys Cys Val Leu Phe Pro Tyr
100 105 110

Gly Gly Cys Gln Gly Asn Gly Asn Lys Phe Tyr Ser Glu Lys Glu Cys
115 120 125

Arg Glu Tyr Cys Gly Val Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
130 135 140

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
145 150 155 160

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
165 170 175

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 180 185 190

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 195 200 205

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 210 215 220

Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 225 230 235 240

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 245 250 255

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 260 265 270

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 275 280 285

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 290 295 300

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 305 310 315 320

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 325 330 335

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 340

<210> 20

<211> 1029

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 20

gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggctct ggccgaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
 60

aagaaagagg actcctgcca gctgggctac tctgccggcc cttgtatggg catgacctcc
 120

cggtacttct acaacggcac ctccatggcc tgcgagacat tccagtagcg cggctgcatg
180

ggcaacggca acaactttgt gacagagaaa gaggcctgc agacctgcag aaccgtggcc
240

gcctgtaacc tgcctatcgt gcggggaccc tgcggggcct ttatccagct gtgggccttc
300

gacgccgtga agggcaaagt cgtgctgttc ccctatggcg gctgccaggg aaatggaaac
360

aagttctact ccgagaaaga atgccgcgag tactgtggcg tgcctctgt gttcctgttc
420

cccccaaagc ccaaggacac cctgatgac tcccggaccc ctgaagtgc ctgcgtggtg
480

gtggatgtgt ccacgagga tcccgaagtg aagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa
540

gtgcacaacg ccaagaccaa gccagagag gaacagtaca actccaccta ccgggtggtg
600

tccgtgctga ccgtgctgca ccaggattgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaagggtg
660

tccaacaagg ccctgcctgc ctccatcgaa aagaccatct ccaaggccaa gggccagccc
720

cgggaacccc aggtgtacac actgccccct agccgggaag agatgacaaa gaaccagggtg
780

tccctgacct gtctcgtgaa gggattctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagtcc
840

aacggccagc ctgagaacaa ctacaagacc accccccctg tgctggactc cgacgggtca
900

ttcttctgt actccaagct gacagtggac aagtcgccgt ggcagcaggg caacgtgttc
960

tcctgtccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca ccagaagtc cctgtccctg
1020

agccccggc
1029

<210> 21

<211> 375

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 21

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

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

Gly Pro Cys Met Gly Met Thr Ser Arg Tyr Phe Tyr Asn Gly Thr Ser
 35 40 45

Met Ala Cys Glu Thr Phe Gln Tyr Gly Gly Cys Met Gly Asn Gly Asn
 50 55 60

Asn Phe Val Thr Glu Lys Glu Cys Leu Gln Thr Cys Arg Thr Val Ala
 65 70 75 80

Ala Cys Asn Leu Pro Ile Val Arg Gly Pro Cys Arg Ala Phe Ile Gln
 85 90 95

Leu Trp Ala Phe Asp Ala Val Lys Gly Lys Cys Val Leu Phe Pro Tyr
 100 105 110

Gly Gly Cys Gln Gly Asn Gly Asn Lys Phe Tyr Ser Glu Lys Glu Cys
 115 120 125

Arg Glu Tyr Cys Gly Val Pro Gly Asp Gly Asp Glu Glu Leu Leu Arg
 130 135 140

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 145 150 155 160

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 165 170 175

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 180 185 190

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 195 200 205

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 210 215 220

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 225 230 235 240

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 245 250 255

Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
260 265 270

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
275 280 285

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
290 295 300

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
305 310 315 320

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
325 330 335

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
340 345 350

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
355 360 365

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
370 375

<210> 22

<211> 1125

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 22

gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggctct ggcggaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
60

tcctccgagg actcctgcca gctgggctac tctgccggcc cttgtatggg catgacctcc
120

cggtaacttct acaacggcac ctccatggcc tgcgagacat tccagtacgg cggctgcatg
180

ggcaacggca acaactttgt gacagagaaa gagtgcctgc agacctgcag aaccgtggcc
240

gcctgtaacc tgcctatcgt gcggggaccc tgctgggcct ttatccagct gtgggccttc
300

gacgccgtga agggcaaatg cgtgctgttc ccctatggcg gctgccaggg aaatggaaac
360

aagttctact ccgagaaaga atgccgcgag tactgtggcg tgccaggcga cggggatgag
420

gaactgctgc gggagcccaa atcttccgac aagaccata cctgtccacc ttgccctgcc
480

cccgagctgc tgggaggatc ctctgtgttc ctgttcccc caaagcccaa ggacaccctg
540

atgatctccc ggaccctga agtgacctgc gtggtggtgg atgtgtcca cgaggatccc
600

gaagtgaagt tcaattggta cgtggacggc gtggaagtgc acaacgcaa gaccaagccc
660

agagaggaac agtacaactc cacctaccgg gtggtgtccg tgctgaccgt gctgcaccag
720

gattggctga acggcaaaga gtacaagtgc aagggtgtcca acaaggccct gcctgcctcc
780

atcgaaaaga ccatctccaa ggccaagggc cagccccggg aaccccaggt gtacacactg
840

ccccctagcc gggaagagat gacaaagaac caggtgtccc tgacctgtct cgtgaaggga
900

ttctaccctt ccgatatgc cgtggaatgg gagtccaacg gccagcctga gaacaactac
960

aagaccaccc cccctgtgct ggactccgac ggctcattct tcctgtactc caagctgaca
1020

gtggacaagt cccggtggca gcagggcaac gtgttctcct gctccgtgat gcacgaggcc
1080

ctgcacaacc actacaccca gaagtccctg tccctgagcc ccggc
1125

<210> 23

<211> 320

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 23

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

Thr	Glu	Val	Thr	Lys	Lys	Thr	Val	Ala	Ala	Cys	Asn	Leu	Pro	Ile	Val
			20					25					30		

Arg	Gly	Pro	Cys	Arg	Ala	Phe	Ile	Gln	Leu	Trp	Ala	Phe	Asp	Ala	Val
			35				40					45			

Lys Gly Lys Cys Val Leu Phe Pro Tyr Gly Gly Cys Gln Gly Asn Gly
 50 55 60

Asn Lys Phe Tyr Ser Glu Lys Glu Cys Arg Glu Tyr Cys Gly Val Pro
 65 70 75 80

Gly Asp Gly Asp Glu Glu Leu Leu Arg Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys
 85 90 95

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser
 100 105 110

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 115 120 125

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 130 135 140

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 145 150 155 160

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 165 170 175

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 180 185 190

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys
 195 200 205

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 210 215 220

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 225 230 235 240

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 245 250 255

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 260 265 270

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 275 280 285

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 290 295 300

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 305 310 315 320

<210> 24

<211> 960

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo:polynucleotit tổng hợp"

<400> 24

gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggctct ggcggaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
 60

aagaaaaccg tggccgcctg taacctgcct atcgtgcggg gaccctgtcg ggcctttatc
 120

cagctgtggg ccttcgacgc cgtgaagggc aaatgcgtgc tgttccccta tggcggctgc
 180

cagggaaatg gaaacaagtt ctactccgag aaagaatgcc gcgagtactg tggcgtgcca
 240

ggcgacgggg atgaggaact gctgcgggag cccaaatctt ccgacaagac ccatacctgt
 300

ccaccttgcc ctgccccga gctgctggga ggatcctctg tgttctgtt cccccaaag
 360

cccaaggaca ccctgatgat ctcccgacc cctgaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg
 420

tcccacgagg atcccgaagt gaagttcaat tggtagctgg acggcgtgga agtgcacaac
 480

gccaagacca agcccagaga ggaacagtac aactccacct accgggtggt gtccgtgctg
 540

accgtgctgc accaggattg gctgaacggc aaagagtaca agtgcaaggt gtccaacaag
 600

gccctgcctg cctccatcga aaagaccatc tccaaggcca agggccagcc ccgggaaccc
 660

caggtgtaca cactgcccc tagccgggaa gagatgacaa agaaccaggt gtccctgacc
 720

tgtctcgtga agggattcta cccctccgat atcgccgtgg aatgggagtc caacggccag
 780

cctgagaaca actacaagac cccccccct gtgctggact ccgacggctc attcttctg
 840

tactccaagc tgacagtgga caagtcccggtggcagcagg gcaacgtgtt ctctgtctcc
900

gtgatgcacg aggccctgca caaccactac acccagaagt ccctgtccct gagccccggc
960

<210> 25

<211> 308

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 25

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

Thr	Glu	Val	Thr	Lys	Lys	Glu	Asp	Ser	Cys	Gln	Leu	Gly	Tyr	Ser	Ala
			20					25					30		

Gly	Pro	Cys	Met	Gly	Met	Thr	Ser	Arg	Tyr	Phe	Tyr	Asn	Gly	Thr	Ser
		35					40					45			

Met	Ala	Cys	Glu	Thr	Phe	Gln	Tyr	Gly	Gly	Cys	Met	Gly	Asn	Gly	Asn
	50					55					60				

Asn	Phe	Val	Thr	Glu	Lys	Glu	Cys	Leu	Gln	Thr	Cys	Arg	Glu	Pro	Lys
65					70					75					80

Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu
			85						90					95	

Leu	Gly	Gly	Ser	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
			100					105					110		

Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
		115					120					125			

Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
	130					135					140				

Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser
145					150					155					160

Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
			165						170					175	

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

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 195 200 205

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 210 215 220

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 225 230 235 240

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 245 250 255

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 260 265 270

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 275 280 285

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 290 295 300

Leu Ser Pro Gly
 305

<210> 26

<211> 924

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 26

gctgtgctgc ctcaggaaga ggaaggctct ggcggaggcc agctcgtgac cgaagtgacc
 60

aagaaagagg actcctgcc a gctgggctac tctgccggcc cttgtatggg catgacctcc
 120

cggtaacttct acaacggcac ctccatggcc tgcgagacat tccagtacgg cggctgcatg
 180

ggcaacggca acaactttgt gacagagaaa gaggcctgc agacctgcag agagcccaaa
 240

tcttccgaca agaccatac ctgtccacct tgccctgccc ccgagctgct gggaggatcc
 300

tctgtgttcc tgttcccccc aaagcccaag gacaccctga tgatctcccg gaccctgaa
360

gtgacctgcg tgggtggtgga tgtgtcccac gaggatcccg aagtgaagtt caattggtac
420

gtggacggcg tggaagtgca caacgccaaag accaagccca gagaggaaca gtacaactcc
480

acctaccggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg attggctgaa cggcaaagag
540

tacaagtgca aggtgtccaa caaggccctg cctgcctcca tcgaaaagac catctccaag
600

gccaaagggc agccccggga accccaggtg tacacactgc cccctagccg ggaagagatg
660

acaaagaacc aggtgtccct gacctgtctc gtgaagggat tctaccctc cgatatcgcc
720

gtggaatggg agtccaacgg ccagcctgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg
780

gactccgacg gctcattctt cctgtactcc aagctgacag tggacaagtc ccggtggcag
840

cagggcaacg tgttctcctg ctccgtgatg cagcaggccc tgcacaacca ctacaccag
900

aagtccctgt ccctgagccc cggc
924

<210> 27

<211> 374

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 27

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

Thr	Gly	Thr	Leu	Lys	Lys	Glu	Asp	Ser	Cys	Gln	Leu	Asn	Tyr	Ser	Glu
			20					25					30		

Gly	Pro	Cys	Leu	Gly	Met	Gln	Glu	Arg	Tyr	Tyr	Tyr	Asn	Gly	Ala	Ser
		35					40					45			

Met	Ala	Cys	Glu	Thr	Phe	Gln	Tyr	Gly	Gly	Cys	Leu	Gly	Asn	Gly	Asn
	50					55					60				

Asn Phe Ile Ser Glu Lys Asp Cys Leu Gln Thr Cys Arg Thr Ile Ala

65						70						75						80
Ala	Cys	Asn	Leu	Pro	Ile	Val	Gln	Gly	Pro	Cys	Arg	Ala	Phe	Ile	Lys			
				85					90					95				
Leu	Trp	Ala	Phe	Asp	Ala	Ala	Gln	Gly	Lys	Cys	Ile	Gln	Phe	His	Tyr			
			100				105				110							
Gly	Gly	Cys	Lys	Gly	Asn	Gly	Asn	Lys	Phe	Tyr	Ser	Glu	Lys	Glu	Cys			
		115			120			125			130			135				
Lys	Glu	Tyr	Cys	Gly	Val	Pro	Gly	Asp	Gly	Tyr	Glu	Glu	Leu	Ile	Arg			
		130			135			140			145			150				
Ser	Lys	Ile	Val	Pro	Arg	Asp	Cys	Gly	Cys	Lys	Pro	Cys	Ile	Cys	Thr			
145					150					155					160			
Val	Pro	Glu	Val	Ser	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp			
				165					170					175				
Val	Leu	Thr	Ile	Thr	Leu	Thr	Pro	Lys	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp			
			180				185				190							
Ile	Ser	Lys	Asp	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Ser	Trp	Phe	Val	Asp	Asp			
		195			200			205			210			215				
Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn			
		210			215			220			225			230				
Ser	Thr	Phe	Arg	Ser	Val	Ser	Glu	Leu	Pro	Ile	Met	His	Gln	Asp	Trp			
225					230					235					240			
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Arg	Val	Asn	Ser	Ala	Ala	Phe	Pro			
				245					250					255				
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Arg	Pro	Lys	Ala			
			260				265				270							
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Ile	Pro	Pro	Pro	Lys	Glu	Gln	Met	Ala	Lys	Asp			
		275			280			285			290			295				
Lys	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Met	Ile	Thr	Asp	Phe	Phe	Pro	Glu	Asp	Ile			
		290			295			300			305			310				
Thr	Val	Glu	Trp	Gln	Trp	Asn	Gly	Gln	Pro	Ala	Glu	Asn	Tyr	Lys	Asn			
305					310					315					320			

Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys
 325 330 335

Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys
 340 345 350

Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu
 355 360 365

Ser His Ser Pro Gly Lys
 370

<210> 28

<211> 1122

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 28

gcagtgctgc cccaagagag tgaggggtca gggactgagc cactaataac tgggaccctc
 60

aagaaagaag actcctgcca gctcaattac tcagaaggcc cctgcctagg gatgcaagag
 120

aggtattact acaacggcgc ttccatggcc tgcgagacct ttcaatatgg gggttgccta
 180

ggcaacggca acaacttcat ctctgagaag gactgtctgc agacatgtcg gaccatagcg
 240

gcctgcaatc tccccatagt ccaaggcccc tgccgagcct tcataaagct ctgggcattt
 300

gatgcagcac aagggaagtg catccaattc cactacgggg gctgcaaagg caacggcaac
 360

aaattctact ctgagaagga atgcaaagag tactgtggag tccctgggtga tgggtacgag
 420

gaactaatac gcagtaaaat cgtgcctcgg gactgcgggt gcaagccctg catctgcacc
 480

gtgcccgagg tgtcctccgt gttcatcttc ccaccaagc ccaaggacgt gctgaccatc
 540

accctgaccc ccaaagtgac ctgcgtggtg gtggacatct ccaaggacga ccccgagggtg
 600

cagttcagtt gggtcgtgga cgacgtggaa gtgcacaccg cccagaccca gccagagag
 660

gaacagttca actccacctt cagatccgtg tccgagctgc ccatcatgca ccaggactgg
720

ctgaacggca aagagttcaa gtgcagagtg aactccgccg ccttcccagc ccccatcgaa
780

aagaccatct ccaagaccaa gggcagaccc aaggccccc aggtgtacac catccccca
840

cccaaagaac agatggccaa ggacaaggtg tccctgacct gcatgatcac cgatttcttc
900

ccagaggaca tcaccgtgga atggcagtg aacggccagc ccgccgagaa ctacaagaac
960

accagccca tcatggacac cgacggctcc tacttcgtgt actccaagct gaacgtgcag
1020

aagtccaact gggaggccgg caacaccttc acctgtagcg tgctgcacga gggcctgcac
1080

aaccaccaca ccgagaagtc cctgtccac tccccggca ag
1122

<210> 29

<211> 391

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 29

Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
1				5					10				15		

Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Ser	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
			20					25						30	

Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
		35					40					45			

Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
	50					55					60				

Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
65					70					75				80	

Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
				85					90					95	

Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
			100					105						110	

Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Val Leu Pro Gln Glu Glu Glu Gly
 245 250 255

Ser Gly Gly Gly Gln Leu Val Thr Glu Val Thr Lys Lys Glu Asp Ser
 260 265 270

Cys Gln Leu Gly Tyr Ser Ala Gly Pro Cys Met Gly Met Thr Ser Arg
 275 280 285

Tyr Phe Tyr Asn Gly Thr Ser Met Ala Cys Glu Thr Phe Gln Tyr Gly
 290 295 300

Gly Cys Met Gly Asn Gly Asn Asn Phe Val Thr Glu Lys Glu Cys Leu
 305 310 315 320

Gln Thr Cys Arg Thr Val Ala Ala Cys Asn Leu Pro Ile Val Arg Gly
 325 330 335

Pro Cys Arg Ala Phe Ile Gln Leu Trp Ala Phe Asp Ala Val Lys Gly
 340 345 350

Lys Cys Val Leu Phe Pro Tyr Gly Gly Cys Gln Gly Asn Gly Asn Lys
 355 360 365

Phe Tyr Ser Glu Lys Glu Cys Arg Glu Tyr Cys Gly Val Pro Gly Asp
 370 375 380

Gly Asp Glu Glu Leu Leu Arg
 385 390

<210> 30
 <211> 1173
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 30
 gagcccaaat cttccgacaa gaccataacc tgtccacctt gccctgcccc cgagctgctg
 60

ggaggatcct ctgtgttcct gttcccccca aagcccaagg acaccctgat gatctcccg
 120

accctgaag tgacctgctt ggtggtggat gtgtccacag aggatcccg agtgaagttc
 180

aattggtacg tggacggcgt ggaagtgcac aacgccaaga ccaagcccag agaggaacag
 240

tacaactcca cctaccgggt ggtgtccgtg ctgaccgtgc tgcaccagga ttggtgaac
 300

ggcaaagagt acaagtgcaa ggtgtccaac aaggccctgc ctgcctccat cgaaaagacc
 360

atctccaagg ccaagggcca gccccgggaa cccaggtgt acacactgcc ccttagccgg
 420

gaagagatga caaagaacca ggtgtccctg acctgtctcg tgaagggatt ctaccctcc
 480

gatatcgccg tggaatggga gtccaacggc cagcctgaga acaactacaa gaccaccccc
 540

cctgtgctgg actccgacgg ctcatcttct ctgtactcca agctgacagt ggacaagtcc
 600

cgggtggcagc agggcaacgt gttctcctgc tccgtgatgc acgaggccct gcacaaccac
 660

tacaccaga agtccctgtc cctgagcccc ggcaagggag gtggtggatc aggaggtgga
 720

ggttccggtg gcggaggatc agctgtgctg cctcaggaag aggaaggctc tggcggaggc
 780

cagctcgtga ccgaagtgac caagaaagag gactcctgcc agctgggcta ctctgccggc
840

ccttgatatgg gcatgacctc ccggtacttc tacaacggca cctccatggc ctgcgagaca
900

ttccagtagc gcggtgcat gggcaacggc aacaactttg tgacagagaa agagtgcctg
960

cagacctgca gaaccgtggc cgcctgtaac ctgcctatcg tgcggggacc ctgtcggggc
1020

tttatccagc tgtgggcctt cgacgccgtg aaggggcaa atgcgtgctgtt cccctatggc
1080

ggctgccagg gaaatggaaa caagttctac tccgagaaa atgcccgcga gtactgtggc
1140

gtgccaggcg acggggatga ggaactgctg cgg
1173

<210> 31

<211> 147

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 31

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

Thr	Glu	Val	Thr	Lys	Lys	Glu	Asp	Ser	Cys	Gln	Leu	Gly	Tyr	Ser	Ala
			20					25					30		

Gly	Pro	Cys	Met	Gly	Met	Thr	Ser	Arg	Tyr	Phe	Tyr	Asn	Gly	Thr	Ser
		35					40					45			

Met	Ala	Cys	Glu	Thr	Phe	Gln	Tyr	Gly	Gly	Cys	Met	Gly	Asn	Gly	Asn
	50					55					60				

Asn	Phe	Val	Thr	Glu	Lys	Glu	Cys	Leu	Gln	Thr	Cys	Arg	Thr	Val	Ala
65					70					75				80	

Ala	Cys	Asn	Leu	Pro	Ile	Val	Arg	Gly	Pro	Cys	Arg	Ala	Phe	Ile	Gln
				85					90					95	

Leu	Trp	Ala	Phe	Asp	Ala	Val	Lys	Gly	Lys	Cys	Val	Leu	Phe	Pro	Tyr
			100					105					110		

Gly Gly Cys Gln Gly Asn Gly Asn Lys Phe Tyr Ser Glu Lys Glu Cys
 115 120 125

Arg Glu Tyr Cys Gly Val Pro Gly Asp Gly Asp Glu Glu Leu Leu Arg
 130 135 140

Phe Ser Asn
 145

<210> 32
 <211> 352
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 32
 Met Arg Ser Leu Gly Ala Leu Leu Leu Leu Leu Ser Ala Cys Leu Ala
 1 5 10 15

Val Ser Ala Gly Pro Val Pro Thr Pro Pro Asp Asn Ile Gln Val Gln
 20 25 30

Glu Asn Phe Asn Ile Ser Arg Ile Tyr Gly Lys Trp Tyr Asn Leu Ala
 35 40 45

Ile Gly Ser Thr Cys Pro Trp Leu Lys Lys Ile Met Asp Arg Met Thr
 50 55 60

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

Met Thr Ser Thr Arg Trp Arg Lys Gly Val Cys Glu Glu Thr Ser Gly
 85 90 95

Ala Tyr Glu Lys Thr Asp Thr Asp Gly Lys Phe Leu Tyr His Lys Ser
 100 105 110

Lys Trp Asn Ile Thr Met Glu Ser Tyr Val Val His Thr Asn Tyr Asp
 115 120 125

Glu Tyr Ala Ile Phe Leu Thr Lys Lys Phe Ser Arg His His Gly Pro
 130 135 140

Thr Ile Thr Ala Lys Leu Tyr Gly Arg Ala Pro Gln Leu Arg Glu Thr
 145 150 155 160

```

Leu Leu Gln Asp Phe Arg Val Val Ala Gln Gly Val Gly Ile Pro Glu
      165              170              175

Asp Ser Ile Phe Thr Met Ala Asp Arg Gly Glu Cys Val Pro Gly Glu
      180              185              190

Gln Glu Pro Glu Pro Ile Leu Ile Pro Arg Val Arg Arg Ala Val Leu
      195              200              205

Pro Gln Glu Glu Glu Gly Ser Gly Gly Gly Gln Leu Val Thr Glu Val
      210              215              220

Thr Lys Lys Glu Asp Ser Cys Gln Leu Gly Tyr Ser Ala Gly Pro Cys
      225              230              235              240

Met Gly Met Thr Ser Arg Tyr Phe Tyr Asn Gly Thr Ser Met Ala Cys
      245              250              255

Glu Thr Phe Gln Tyr Gly Gly Cys Met Gly Asn Gly Asn Asn Phe Val
      260              265              270

Thr Glu Lys Glu Cys Leu Gln Thr Cys Arg Thr Val Ala Ala Cys Asn
      275              280              285

Leu Pro Ile Val Arg Gly Pro Cys Arg Ala Phe Ile Gln Leu Trp Ala
      290              295              300

Phe Asp Ala Val Lys Gly Lys Cys Val Leu Phe Pro Tyr Gly Gly Cys
      305              310              315              320

Gln Gly Asn Gly Asn Lys Phe Tyr Ser Glu Lys Glu Cys Arg Glu Tyr
      325              330              335

Cys Gly Val Pro Gly Asp Gly Asp Glu Glu Leu Leu Arg Phe Ser Asn
      340              345              350

<210> 33
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 33
Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1              5

```

<210> 34
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 34
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 35
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 35
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 36
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 36
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser
 20

<210> 37
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 37
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 38
<211> 31
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 38
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 39
<211> 36
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 39
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Ser
35

<210> 40
<211> 41
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 40
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
35 40

<210> 41

<211> 46

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 41

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
35 40 45

<210> 42

<211> 51

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 42

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
35 40 45

Gly Gly Ser
50

<210> 43

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 43

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 44

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 44

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 45

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 45

Pro Gly Asp Gly Asp Glu Glu Leu Leu Arg Glu Pro Lys Ser Ser Asp
1 5 10 15

Lys Thr His

<210> 46

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 46

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

Lys Thr His

<210> 47
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 47
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 48
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 48
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15