(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) **1-0032907**

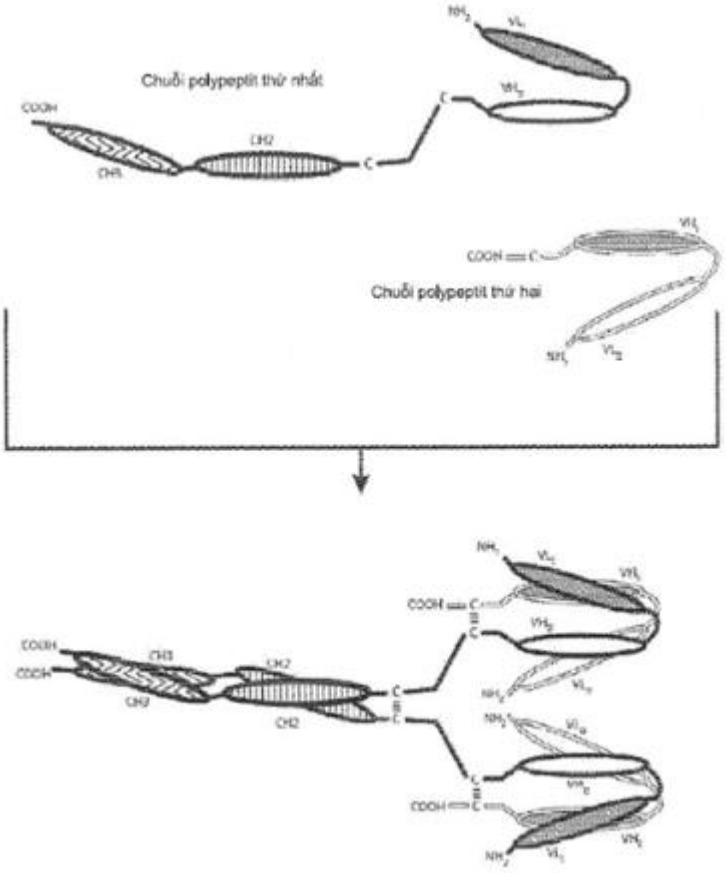
(51)[7] **C07K 16/46**; C07K 16/24

(13) **B**

(21) 1-2018-00730 (22) 21/07/2016
(86) PCT/US2016/043267 21/07/2016 (87) WO 2017/015433 26/01/2017
(30) 62/196,170 23/07/2015 US; 62/201,067 04/08/2015 US; 62/355,302 27/06/2016 US
(45) 25/08/2022 413 (43) 27/08/2018 365A
(73) 1. BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH (DE)
Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim Am Rhein, Germany
2. MACROGENICS, INC. (US)
9704 Medical Center Drive, Rockville, Maryland 20850, UNITED STATES OF AMERICA
(72) SINGH, Sanjaya (US); PAN, Qi (CN); BARRETT, Rachel, Rebecca (US); JOHNSON, Leslie, S. (US); GUPTA, Pankaj (US); LOW, Sarah (US); WU, Haixia (CN).
(74) Công ty TNHH dịch vụ sở hữu trí tuệ DREWMARKS (DREWMARKS CO .,LTD.)

(54) HỢP CHẤT BAO GỒM POLYPEPTIT GẮN ĐÍCH IL-23A VÀ YẾU TỐ HOẠT HÓA TẾ BÀO B (BAFF), DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất đặc hiệu với IL23A và BAFF, dược phẩm chứa các hợp chất này, và phương pháp sử dụng nó. Axit nucleic, tế bào, và phương pháp sản xuất liên quan đến hợp chất và dược phẩm cũng được bộc lộ.


Chuỗi polypeptit thứ nhất
Chuỗi polypeptit thứ hai

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất đặc hiệu với yếu tố hoạt hóa tế bào B (B-cell activating factor – BAFF) và IL23A, dược phẩm chứa các hợp chất này, cũng như phương pháp sử dụng và quy trình sản xuất nó.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh viêm bao gồm đáp ứng miễn dịch tự nhiên và miễn dịch thích ứng cần phải có để chống lại sự nhiễm trùng. Tuy nhiên, khi quá trình viêm phát triển thành bệnh tự miễn hoặc tự viêm chưa được kiểm tra, thì bệnh thoái hóa thần kinh, và thậm chí bệnh ung thư có thể phát sinh. Biết rằng xytokin tiền viêm như IL1, BAFF, TNF-alpha, IL6, IL12, IL17, IL18, và IL23 có tham gia vào quá trình viêm và các con đường cụ thể hoạt hóa tế bào miễn dịch. Tuy nhiên, chưa rõ là liệu việc ức chế một hoặc nhiều xytokin này có thể điều trị các bệnh tự miễn hoặc tự viêm hay không hoặc bằng cách nào.

Interleukin 23 (IL23) là một xytokin heterodime gồm có hai tiểu đơn vị, p40 và p19. Tiểu đơn vị p19 cũng được gọi là IL-23A. Trong khi tiểu đơn vị p19 là duy nhất đối với IL23, thì tiểu đơn vị p40 lại là chung với xytokin IL12. IL23 hiện nay nổi lên là chất điều hòa then chốt của tế bào T Th17, γδ gây bệnh và tế bào bạch huyết tự nhiên (innate lymphoid cell - ILC) thúc đẩy việc sản xuất IL17, IL22 và xytokin khác dẫn đến sự viêm và phá hủy mô tại chỗ. IL23 thúc đẩy sự điều hòa tăng của MMP9 (matrix metalloproteaza – proteinaza kim loại trong chất nền ngoại bào), làm tăng tạo mạch, giảm thâm nhiễm tế bào T CD8+, và kéo theo sự phát triển các khối u ung thư. Ngoài ra, cùng với IL6 và TGFβ1, IL23 kích thích tế bào T CD4+ T nguyên vẹn để biệt hóa thành tế bào Th17. Lần lượt, tế bào Th17 tạo ra IL17, là một xytokin tiền viêm làm tăng cường sự mồi tế bào T và kích thích sự sinh xytokin tiền viêm như IL1, IL6, TNF-alpha, NOS-2, và cũng gây ra sự biểu hiện các chemokin gây ra viêm và nguyên nhân bệnh học. IL23 biểu hiện tác dụng của nó qua thụ thể bề mặt tế bào gồm

có tiểu đơn vị IL12β1 của thụ thể IL12 kết cặp với tiểu đơn vị duy nhất IL23R. Sự biểu hiện của IL23R bị giới hạn ở một nhóm cụ thể các tế bào miễn dịch và được tìm thấy chủ yếu trên tập hợp nhỏ của tế bào T (αβ và γδ TCR+) và tế bào NK.

Ở chuột, sự cắt gen IL23p19 gây ra mất chức năng IL23 có chọn lọc kèm theo các đáp ứng miễn dịch phụ thuộc tế bào T bị tổn thương nghiêm trọng, bao gồm giảm sản sinh globulin miễn dịch đặc hiệu kháng nguyên và suy giảm đáp ứng quá mẫn kiểu chậm (Ghilardi N, và cộng sự (2004) *J. Immunol.* 172(5): 2827-33). Chuột có gen bất hoạt thiếu hụt IL23p40 hoặc IL23p19, hoặc cả hai tiểu đơn vị của thụ thể IL23 (IL23R và IL12β1), sẽ có ít triệu chứng trầm trọng trong mô hình động vật mắc bệnh xơ cứng rải rác, viêm khớp và viêm bụng. Thu được các kết quả tương tự bằng cách sử dụng kháng thể đặc hiệu với IL23p19 trong EAE và mô hình viêm kết tràng do tế bào T còn khẳng định vai trò của IL23 trong các kiểu bệnh này (Chen Y. và cộng sự (2006) *J. Clin. Invet.* 116(5):1317–26; Elson CO. Và cộng sự (2007) *Gastroenterology* 132(7): 2359-70). Điều này nêu bật tầm quan trọng của IL23 trong bệnh viêm mãn tính (Langowski và cộng sự (2006) *Nature* 442 (7101): 461–5; Kikly K, và cộng sự (2006) *Curr. Opin. Immunol.* 18 (6): 670–5). Ngoài ra, việc sản sinh IL23 tăng cao được cho là yếu tố chính gây ra bệnh viêm khớp do viêm và trong các bệnh tự miễn do viêm (Adamopoulos và cộng sự (2011) *J. Immunol.* 187: 593-594; và Langris và cộng sự (2005) *J. Exp. Med.* 201:233-240). Mối quan hệ giữa IL23, xytokin xuôi dòng của nó IL22, và sự tạo xương đã được công bố ở mô hình chuột trong đó IL23 bị biểu hiện quá mức (Sherlock và cộng sự (2012) Nat. Med. 18: 1069-76).

Yếu tố hoạt hóa tế bào B (B-cell activating factor - BAFF) là xytokin thuộc siêu họ phối tử yếu tố hoại tử khối u (tumor necrosis factor - TNF) và hoạt động như là phối tử của các thụ thể BAFF-R (BR3), TACI (chất hoạt hóa xuyên màng và tác nhân điều hòa canxi và chất tương tác phối tử xyclophilin) và BCMA (kháng nguyên gây trưởng thành tế bào B). Sự tương tác giữa BAFF và thụ thể của nó sẽ khởi động tín hiệu để tạo ra và duy trì tế bào B, việc này lần lượt sẽ tổng hợp các globulin miễn dịch đáp ứng lại sự tấn công của chất lạ. Các mức BAFF thích hợp ở bệnh nhân sẽ giúp duy trì mức miễn dịch bình thường trong khi đó các mức không đủ sẽ dẫn đến việc suy giảm miễn dịch và các mức quá dư có thể gây ra mức sinh kháng thể cao bất thường. Khi một bệnh nhân biểu hiện bệnh tự miễn, nó sinh ra kháng thể chống lại các mô

hoặc cơ quan của chỉnh cơ thể này. Bệnh tự miễn, bao gồm luput ban đỏ và viêm khớp dạng thấp, do các mức quá dư của BAFF trong cơ thể. Do đó, quan trọng là điều biến mức sản sinh BAFF để điều trị cho bệnh nhân mắc các bệnh này.

BAFF có thể tồn tại ở ba dạng: dạng gắn kết với màng (mbBAFF), dạng BAFF trime tan được (sBAFF) và dạng đa phân tử gồm có BAFF 60 monome (BAFF 60me). Mức độ quan trọng tương đối của các dạng BAFF khác nhau trong bình thường và sinh lý bệnh là chưa được biết rõ. Như đã lưu ý, BAFF gắn kết với ba thụ thể, BAFFR (BR3), TACI và BCMA. Phối tử gây tăng sinh (APRIL), thành phần cùng họ của họ phối tử thụ thể TNF, đã thể hiện là gắn kết với ái lực cao với TACI và BCMA. Ngược với tương tác APRIL:BCMA có ái lực cao, tương tác BAFF:BCMA có ái lực thấp (1-2μM) và không cho rằng nó đóng vai trò quan trọng *in vivo* (Bossen và Schneider, 2006).

BAFF tan được được biểu hiện ở mức độ cao trong các cá thể mắc luput ban đỏ toàn thân (SLE - systemic lupus erythematosus) và ở các cơ quan đích bị viêm như thận. BAFF tan được hoạt động như là yếu tố then chốt cho hiện tượng nội cân bằng và sống sót của tế bào B (Kalled và cộng sự, 2005; Mackay và cộng sự, 2003; Smith và Cancro, 2003; Patke và cộng sự, 2004). Sự tạo ra các tự kháng thể bởi tế bào B phụ thuộc BAFF tạo ra chất lắng đọng IC tiểu cầu, bắt đầu ở màng nền cầu thận (GBM - glomerular basement membrane), màng nâng cuộn mao mạch và mô kẽ trong tế bào biểu mô hình ống gần (PTEC- proximal tubular epithelial cell). Các chất lắng đọng IC này dẫn đến sự cố định bổ thể và hoạt hóa bạch cầu trung tính gây ra tổn thương thận tại chỗ. Chất trung gian gây viêm (*ví dụ,* IL6, IL8, MCP-1) sinh ra bởi các tế bào thận bị tổn thương (MC, PTEC, nguyên bào sợi ở thận, tế bào nội mô) khởi động một chu trình viêm bằng cách làm tăng sự thâm nhiễm tế bào miễn dịch (*ví dụ,* tế bào B, tế bào T, tế bào đuôi gai, bạch cầu trung tính và đại thực bào).

Belimumab - một kháng thể đơn dòng kháng-BAFF (Benlysta®) đã chứng minh khả năng làm giảm sự hình thành tự kháng thể và mang lại lợi ích đáng kể cho bệnh nhân mắc bệnh luput ban đỏ toàn thân (SLE). Tuy nhiên, hiệu lực của belimumab ở bệnh nhân SLE cao nhất vẫn ở mức trung bình, và vẫn cần phải cải thiện (Furie và cộng sự, 2011). Do đó, vẫn cần dược phẩm mới với hiệu lực tăng hơn để điều trị và

phòng bệnh viêm và tự miễn. Hơn nữa, việc xác định phương pháp điều trị hiệu lực hơn sẽ cho phép sử dụng các liều ít hơn, cũng như giảm chi phí của việc điều trị.

Mục đích của sáng chế

Mục đích của sáng chế là cung cấp hợp chất đặc hiệu với BAFF và IL23A, dược phẩm chứa các hợp chất này, cũng như phương pháp sử dụng và quy trình sản xuất nó.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các khía cạnh của sáng chế đề cập đến hợp chất bao gồm polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai, trong đó:

(A) polypeptit thứ nhất gồm có:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai; và

(iii) vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3); và

(B) polypeptit thứ hai bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

trong đó:

a) VL1 và VH1 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất này;

b) VL2 và VH2 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ hai này;

c) vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm tyrosin ở vị trí 252, threonin

ở vị trí 254 và axit glutamic ở vị trí 256, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat; và

d) protein đích thứ nhất này là BAFF và protein đích thứ hai này là IL-23A hoặc protein đích thứ nhất này là IL-23A và protein đích thứ hai này là BAFF,

và trong đó:

(i) VL1 bao gồm SEQ ID NO:2, VH1 bao gồm SEQ ID NO:1, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(ii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:2 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:1; hoặc

(iii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:85, VH1 bao gồm SEQ ID NO:84, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:4; hoặc

(iv) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:85 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:84; hoặc

(v) VL1 bao gồm SEQ ID NO:87, VH1 bao gồm SEQ ID NO:86, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(vi) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:87 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:86; hoặc

(vii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:89, VH1 bao gồm SEQ ID NO:88, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(viii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:89 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:88; hoặc

(ix) VL1 bao gồm SEQ ID NO:91, VH1 bao gồm SEQ ID NO:90, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(x) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:91 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:90.

Theo một số phương án, polypeptit thứ nhất này còn bao gồm cầu nối thứ nhất giữa VL1 và VH2 và polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ hai giữa VL2 và VH1. Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất hoặc cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất và cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, polypeptit thứ nhất này còn bao gồm cầu nối thứ ba giữa VH2 hoặc VL1 và vùng bản lề, và polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ tư sau VH1 (ở đầu tận cùng C của nó) hoặc VL2 (ở đầu tận cùng C của nó). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba của polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82), và cầu nối thứ tư của polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). Theo các phương án khác, cầu nối thứ ba của polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83), và cầu nối thứ tư của polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba của polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) hoặc trình tự axit amin GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). Theo các phương án khác, cầu nối thứ tư của polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) hoặc trình tự axit amin GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba bao gồm trình tự axit amin VEPKSC (SEQ ID NO:72) hoặc trình tự axit amin FNRGEC (SEQ ID NO:71). Theo một số phương án, cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin FNRGEC (SEQ ID NO:71) hoặc trình tự axit amin VEPKSC (SEQ ID NO:72). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba bao gồm trình tự axit amin VEPKSC (SEQ ID NO:72) và cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin FNRGEC (SEQ ID NO:71).

Theo một số phương án, polypeptit thứ nhất này còn bao gồm vùng chức năng trong vùng cố định chuỗi nặng 1 (CH1) giữa VH2 hoặc VL1 (phụ thuộc vào cấu hình) và vùng bản lề và polypeptit thứ hai còn bao gồm vùng chức năng trong vùng cố định chuỗi nhẹ (CL) ở đầu tận cùng C của VH1 hoặc VL2 (phụ thuộc vào cấu hình), trong đó CL và CH1 kết hợp với nhau qua liên kết disulfua để tạo ra vùng chức năng C1. Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất (giữa VL1 và VH2) hoặc cầu nối thứ hai (giữa VL2 và VH1) bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất và cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, polypeptit thứ nhất này còn bao gồm cầu nối thứ ba giữa VH2 hoặc VL1 (phụ thuộc vào cấu hình) và CH1, và polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ tư giữa VH1 hoặc VL2 (phụ thuộc vào cấu hình) và CL. Theo một số phương án, cầu nối thứ ba hoặc cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin LGGGSG (SEQ ID NO:70). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin LGGGSG (SEQ ID NO:70). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và/hoặc cầu nối thứ tư bao gồm gốc cystein tùy chọn. Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và/hoặc cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin GGCGGG (SEQ ID NO:135) hoặc LGGCGGGS (SEQ ID NO:136).

Theo một số phương án, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm alanin ở vị trí 234 và alanin ở vị trí 235, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat cho kháng thể thông thường.

Theo một số phương án, trình tự axit amin của vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) hoặc vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3) có nguồn gốc từ IgG1 hoặc từ IgG4. Theo một số phương án, vùng bản lề bao gồm trình tự axit amin EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76). Vùng bản lề của SEQ ID NO:76 xuất hiện trong, ví dụ, polypeptit SEQ ID NO:5. Theo các phương án khác, vùng bản lề bao gồm trình tự axit amin LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130). Vùng bản lề của SEQ ID NO:130 xuất hiện trong, ví dụ, polypeptit SEQ ID NO:9. Theo một phương án khác nữa, vùng bản lề bao gồm trình tự axit amin ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). Vùng bản lề của SEQ ID NO:134 xuất hiện trong, ví dụ, SEQ ID NO:13 polypeptit.

Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai

polypeptit thứ hai, trong đó hai polypeptit thứ nhất kết hợp với nhau qua ít nhất một liên kết disulfua. Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai, trong đó hai polypeptit thứ nhất kết hợp với nhau qua ít nhất một liên kết disulfua và trong đó mỗi polypeptit thứ nhất được kết hợp với một polypeptit thứ hai qua ít nhất một liên kết disulfua.

Theo một số phương án,

(i) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; hoặc

(ii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; hoặc

(iii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:9 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:10; hoặc

(iv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:11 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:12; hoặc

(v) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:13 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:14; hoặc

(vi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; hoặc

(vii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:17 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:18; hoặc

(viii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:19 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:20; hoặc

(ix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:21 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:22; hoặc

(x) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24; hoặc

(xi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:25 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:26; hoặc

(xii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:27 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:28; hoặc

(xiii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:29 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30; hoặc

(xiv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:32; hoặc

(xv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:33 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:34; hoặc

(xvi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:35 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:36; hoặc

(xvii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:37 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:38; hoặc

(xviii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:39 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:40; hoặc

(xix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:41 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:42; hoặc

(xx) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:43 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:44; hoặc

(xxi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:45 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:46; hoặc

(xxii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:47 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:48; hoặc

(xxiii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:49 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:50; hoặc

(xxiv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:51 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:52; hoặc

(xxv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:53 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:54; hoặc

(xxvi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:55 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:56; hoặc

(xxvii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:57 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:58; hoặc

(xxviii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:59 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:60; hoặc

(xxix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:61 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:62; hoặc

(xxx) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:63 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:64; hoặc

(xxxi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:65 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:66; hoặc

(xxxii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:67 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:68.

Theo một số phương án, trong đó hợp chất này bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai, trong đó hai polypeptit thứ nhất kết hợp với nhau qua ít nhất một liên kết disulfua.

Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai, và trong đó vùng bản lề, CH2 và CH3, của một trong số các polypeptit thứ nhất kết hợp với vùng bản lề, CH2 và CH3, polypeptit thứ nhất còn lại để tạo ra phân tử bốn hóa trị. Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai, trong đó mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm CH1, vùng bản lề, CH2 và CH3 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm CL và trong đó vùng bản lề, CH2 và CH3 của một trong số các polypeptit thứ nhất kết hợp với vùng bản lề, CH2 và CH3 của polypeptit thứ nhất còn lại và CH1 của mỗi polypeptit thứ nhất kết hợp với CL của một polypeptit thứ hai để tạo ra phân tử bốn hóa trị (ví dụ, monome, kháng thể monome như mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế) (ví dụ, hợp chất E và V). Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai, trong đó mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm cầu nối thứ

ba, vùng bản lề, CH2 và CH3, và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm cầu nối thứ tư và trong đó vùng bản lề, CH2 và CH3 của một trong số các polypeptit thứ nhất kết hợp với vùng bản lề, CH2 và CH3 của polypeptit thứ nhất còn lại và cầu nối thứ ba của mỗi polypeptit thứ nhất kết hợp với cầu nối thứ tư của một polypeptit thứ hai để tạo ra phân tử hóa trị bốn (ví dụ, monome, kháng thể monome như mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế) (ví dụ, hợp chất U và T).

Các khía cạnh khác sáng chế đề cập đến hợp chất thứ nhất cạnh tranh với hợp chất thứ hai về gắn kết với IL-23A và với BAFF, trong đó hợp chất thứ nhất bao gồm polypeptit thứ ba và polypeptit thứ tư, trong đó:

(A) polypeptit thứ ba bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai; và

(iii) vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3); và

(B) polypeptit thứ tư bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai này;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất này;

và trong đó

(i) VL1 và VH1 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất này;

(ii) VL2 và VH2 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ hai này; và

(iii) protein đích thứ nhất là BAFF và protein đích thứ hai là IL-23A hoặc protein đích thứ nhất là IL-23A và protein đích thứ hai là

BAFF,

và trong đó hợp chất thứ hai bao gồm polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai, trong đó:

(i) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; hoặc

(ii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; hoặc

(iii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:9 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:10; hoặc

(iv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:11 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:12; hoặc

(v) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:13 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:14; hoặc

(vi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; hoặc

(vii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:17 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:18; hoặc

(viii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:19 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:20; hoặc

(ix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:21 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:22; hoặc

(x) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24; hoặc

(xi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:25 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:26; hoặc

(xii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:27 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:28; hoặc

(xiii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:29 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30; hoặc

(xiv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:32; hoặc

(xv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:33 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:34; hoặc

(xvi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:35 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:36; hoặc

(xvii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:37 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:38; hoặc

(xviii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:39 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:40; hoặc

(xix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:41 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:42; hoặc

(xx) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:43 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:44; hoặc

(xxi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:45 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:46; hoặc

(xxii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:47 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:48; hoặc

(xxiii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:49 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:50; hoặc

(xxiv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:51 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:52; hoặc

(xxv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:53 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:54; hoặc

(xxvi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:55 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:56; hoặc

(xxvii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:57 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:58; hoặc

(xxviii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:59 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:60; hoặc

(xxix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:61 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:62; hoặc

(xxx) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:63 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:64; hoặc

(xxxi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:65 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:66; hoặc

(xxxii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:67 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:68.

Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến hợp chất bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai;

trong đó hai polypeptit thứ nhất kết hợp với nhau qua ít nhất một liên kết disulfua và trong đó mỗi polypeptit thứ nhất được kết hợp với một polypeptit thứ hai qua ít nhất một liên kết disulfua;

trong đó mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai;

(iii) vùng cố định chuỗi nặng 1 (CH1), vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3); và

trong đó mỗi polypeptit thứ hai bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai này;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất này;

(iii) vùng chức năng trong vùng cố định chuỗi nhẹ (CL);

trong đó vùng bản lề, CH2 và CH3 của một trong số các polypeptit thứ nhất kết hợp với vùng bản lề, CH2 và CH3 của polypeptit thứ nhất còn lại và CH1 của mỗi polypeptit thứ nhất kết hợp với CL của mỗi polypeptit thứ hai để tạo ra phân tử hóa trị bốn;

trong đó

a) VL1 và VH1 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất này;

b) VL2 và VH2 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ hai này;

c) vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm tyrosin ở vị trí 252, threonin ở vị trí 254 và axit glutamic ở vị trí 256, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat; và

d) protein đích thứ nhất này là BAFF và protein đích thứ hai này là IL-23A hoặc protein đích thứ nhất là IL-23A và protein đích thứ hai là BAFF,

và trong đó:

(i) VL1 bao gồm SEQ ID NO:2, VH1 bao gồm SEQ ID NO:1, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(ii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:2 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:1; hoặc

(iii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:85, VH1 bao gồm SEQ ID NO:84, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:4; hoặc

(iv) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:85 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:84; hoặc

(v) VL1 bao gồm SEQ ID NO:87, VH1 bao gồm SEQ ID NO:86, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(vi) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:87 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:86; hoặc

(vii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:89, VH1 bao gồm SEQ ID NO:88, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(viii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:89 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:88; hoặc

(ix) VL1 bao gồm SEQ ID NO:91, VH1 bao gồm SEQ ID NO:90, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(x) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:91 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:90.

Theo một số phương án liên quan đến khía cạnh trên, mỗi polypeptit thứ nhất còn bao gồm cầu nối thứ nhất giữa VL1 và VH2, và mỗi polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ hai giữa VL2 và VH1. Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất hoặc cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất và cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, mỗi polypeptit thứ nhất còn bao gồm cầu nối thứ ba giữa VH2 (hoặc VL1) và CH1, và mỗi polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ tư giữa VH1 (hoặc VL2) và CL. Theo một số phương án, cầu nối thứ ba hoặc cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin LGGGSG (SEQ ID NO:70). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin LGGGSG (SEQ ID NO:70). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và/hoặc cầu nối thứ tư bao gồm gốc cystein tùy chọn. Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và/hoặc cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin GGCGGG (SEQ ID NO:135) hoặc LGGCGGGS (SEQ ID NO:136). Theo một số phương án, vùng cố định chuỗi nặng 2

(CH2) bao gồm alanin ở vị trí 234 và alanin ở vị trí 235, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat. Theo một số phương án, trình tự axit amin của vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) hoặc vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3) có nguồn gốc từ IgG1 hoặc từ IgG4. Theo một số phương án, vùng bản lề bao gồm trình tự axit amin EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), trình tự axit amin LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) hoặc trình tự axit amin ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134).

Theo một số phương án,

(i) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; hoặc

(ii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; hoặc

(iii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:13 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:14; hoặc

(iv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; hoặc

(v) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:21 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:22; hoặc

(vi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:25 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:26; hoặc

(vii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:29 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30; hoặc

(viii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:33 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:34; hoặc

(ix) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:37 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:38; hoặc

(x) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:41 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:42; hoặc

(xi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:45 và mỗi

polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:46; hoặc

(xii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:49 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:50; hoặc

(xiii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:53 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:54; hoặc

(xiv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:55 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:56; hoặc

(xv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:57 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:58; hoặc

(xvi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:59 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:60; hoặc

(xvii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:61 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:62; hoặc

(xviii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:63 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:64; hoặc

(xix) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:65 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:66; hoặc

(xx) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:67 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:68.

Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến hợp chất bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai; trong đó hai polypeptit thứ nhất kết hợp với nhau qua ít nhất một liên kết disulfua và trong đó mỗi polypeptit thứ nhất được kết hợp với một polypeptit thứ hai qua ít nhất một liên kết disulfua; và trong đó (i) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; hoặc

(ii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; hoặc

(iii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:13 và mỗi

polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:14; hoặc

(iv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; hoặc

(v) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:21 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:22; hoặc

(vi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:25 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:26; hoặc

(vii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:29 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30; hoặc

(viii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:33 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:34; hoặc

(ix) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:37 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:38; hoặc

(x) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:41 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:42; hoặc

(xi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:45 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:46; hoặc

(xii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:49 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:50; hoặc

(xiii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:53 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:54; hoặc

(xiv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:55 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:56; hoặc

(xv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:57 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:58; hoặc

(xvi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:59 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:60; hoặc

(xvii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:61 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:62; hoặc

(xviii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:63 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:64; hoặc

(xix) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:65 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:66; hoặc

(xx) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:67 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:68.

Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến hợp chất bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai;

trong đó hai polypeptit thứ nhất kết hợp với nhau qua ít nhất một liên kết disulfua và trong đó mỗi polypeptit thứ nhất được kết hợp với một polypeptit thứ hai qua ít nhất một liên kết disulfua;

trong đó mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm:

(iv) vùng chức năng vực biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(v) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai;

(vi) vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3); và

trong đó mỗi polypeptit thứ hai bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai này; và

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất này;

trong đó vùng bản lề, CH2 và CH3 của một trong số các polypeptit thứ nhất kết hợp với vùng bản lề, CH2 và CH3 của polypeptit thứ nhất còn lại và;

trong đó

e) VL1 và VH1 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất này;

f) VL2 và VH2 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ hai này;

g) vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm tyrosin ở vị trí 252, threonin ở vị trí 254 và axit glutamic ở vị trí 256, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat; và

h) protein đích thứ nhất này là BAFF và protein đích thứ hai này là IL-23A hoặc protein đích thứ nhất là IL-23A và protein đích thứ hai là BAFF,

và trong đó:

(i) VL1 bao gồm SEQ ID NO:2, VH1 bao gồm SEQ ID NO:1, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(ii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:2 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:1; hoặc

(iii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:85, VH1 bao gồm SEQ ID NO:84, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:4; hoặc

(iv) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:85 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:84; hoặc

(v) VL1 bao gồm SEQ ID NO:87, VH1 bao gồm SEQ ID NO:86, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(vi) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:87 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:86; hoặc

(vii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:89, VH1 bao gồm SEQ ID NO:88, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3;

hoặc

(viii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:89 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:88; hoặc

(ix) VL1 bao gồm SEQ ID NO:91, VH1 bao gồm SEQ ID NO:90, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(x) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:91 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:90.

Theo một số phương án liên quan đến khía cạnh trên, mỗi polypeptit thứ nhất còn bao gồm cầu nối thứ nhất giữa VL1 và VH2, và mỗi polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ hai giữa VL2 và VH1. Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất hoặc cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất và cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, mỗi polypeptit thứ nhất còn bao gồm cầu nối thứ ba giữa VH2 hoặc VL1 và vùng bản lề, và mỗi polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ tư ở đầu tận cùng C của VH1 hoặc VL2. Theo một số phương án, cầu nối thứ ba của polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82), và cầu nối thứ tư của polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). Theo các phương án khác, cầu nối thứ ba của polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83), và cầu nối thứ tư của polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba của polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) hoặc trình tự axit amin GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). Theo các phương án khác, cầu nối thứ tư của polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) hoặc trình tự axit amin

GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba bao gồm trình tự axit amin VEPKSC (SEQ ID NO:72) hoặc trình tự axit amin FNRGEC (SEQ ID NO:71). Theo một số phương án, cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin FNRGEC (SEQ ID NO:71) hoặc trình tự axit amin VEPKSC (SEQ ID NO:72). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba bao gồm trình tự axit amin VEPKSC (SEQ ID NO:72) và cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin FNRGEC (SEQ ID NO:71). Theo một số phương án, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm alanin ở vị trí 234 và alanin ở vị trí 235, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat. Theo một số phương án, trình tự axit amin của vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) hoặc vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3) có nguồn gốc từ IgG1 hoặc từ IgG4. Theo một số phương án, vùng bản lề bao gồm trình tự axit amin EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), trình tự axit amin LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) hoặc trình tự axit amin ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). Theo một số phương án, (i) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:9 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:10; hoặc

(ii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:11 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:12; hoặc

(iii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:17 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:18; hoặc

(iv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:19 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:20; hoặc

(v) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24; hoặc

(vi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:27 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:28; hoặc

(vii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:32; hoặc

(viii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:35 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:36; hoặc

(ix) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:39 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:40; hoặc

(x) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:43 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:44; hoặc

(xi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:47 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:48; hoặc

(xii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:51 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:52.

Các khía cạnh khác nữa của sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất mô tả trong đây, như hợp chất được mô tả ở trên.

Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh tự nhiễm hoặc bệnh viêm bao gồm sử dụng hợp chất mô tả trong đây, như hợp chất được mô tả ở trên, hoặc dược phẩm chứa hợp chất này cho đối tượng.

Các khía cạnh khác nữa của sáng chế đề cập đến hợp chất mô tả trong đây, như hợp chất mô tả ở trên, để sử dụng làm thuốc. Theo một số phương án, việc sử dụng này là phương pháp điều trị bệnh tự nhiễm hoặc bệnh viêm.

Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất mô tả trong đây, như hợp chất mô tả ở trên, để sử dụng làm thuốc. Theo một số phương án, việc sử dụng này là để điều trị bệnh tự nhiễm hoặc bệnh viêm.

Các khía cạnh khác nữa của sáng chế đề cập đến axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit mô tả trong đây, như polypeptit được mô tả ở trên. Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến vectơ chứa axit nucleic này. Theo một số phương án, vectơ này bao gồm gen khởi đầu được liên kết điều khiển với axit nucleic này. Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến tế bào chứa axit nucleic này hoặc vectơ này.

Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến phương pháp tạo ra hợp chất hoặc polypeptit như mô tả trong đây, như polypeptit được mô tả ở trên, bao gồm bước thu lấy tế bào mô tả trong đây, tế bào này được mô tả ở trên, và biểu hiện axit nucleic như mô tả trong đây trong tế bào này. Theo một số phương án, phương pháp này còn bao

gồm phân tách và tinh chế polypeptit hoặc hợp chất này.

Chi tiết về một hoặc nhiều phương án của sáng chế được nêu trong phần mô tả sau đây. Các đặc điểm và thuận lợi khác của sáng chế sẽ rõ ràng ở hình vẽ và phần mô tả chi tiết của một số phương án, và cũng như yêu cầu bảo hộ đính kèm.

Mô tả vắt tắt các hình vẽ

Các hình vẽ sau đây là một phần của sáng chế và được đưa vào để làm rõ hơn các khía cạnh của sáng chế, các khía cạnh này có thể được hiểu rõ hơn khi tham khảo một hoặc nhiều hình vẽ này cùng với phần mô tả chi tiết các phương án cụ thể nêu trong đây.

FIG.1A là sơ đồ của hợp chất ví dụ đặc hiệu với BAFF và IL23A. Chuỗi polypeptit thứ nhất chứa các vùng chức năng CH3, CH2, VH_2 (VH_{II}) và VL_1 (VL_I). Chuỗi polypeptit thứ hai chứa các vùng chức năng VH_1 (VH_I) và VL_2 (VL_{II}). VL_1 và VH_1 là đặc hiệu với protein đích thứ nhất (hoặc BAFF hoặc IL23A) và VL_2 và VH_2 là đặc hiệu với protein đích thứ hai (hoặc IL23A hoặc BAFF). Ô bên trên thể hiện mỗi chuỗi polypeptit riêng biệt. Ô bên dưới thể hiện hợp chất hóa trị bốn (ví dụ, monome, kháng thể monome như mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế) tạo thành bởi sự kết hợp của vùng chức năng CH2 và CH3 của một polypeptit thứ nhất với vùng chức năng CH2 và CH3 của polypeptit thứ nhất còn lại. Vùng chức năng gắn kết của protein đích thứ nhất và thứ hai lần lượt được tạo ra qua sự kết hợp của VH_1 và VL_1 và qua sự kết hợp của VH_2 và VL_2.

FIG.1B là sơ đồ của hợp chất ví dụ khác đặc hiệu với BAFF và IL23A. Chuỗi polypeptit thứ nhất chứa các vùng chức năng CH3, CH2, CH1, VH_2 (VH_{II}) và VL_1 (VL_I). Chuỗi polypeptit thứ hai chứa các vùng chức năng CL, VH_1 (VH_I) và VL_2 (VL_{II}). VL_1 và VH_1 là đặc hiệu với protein đích thứ nhất (hoặc BAFF hoặc IL23A) và VL_2 và VH_2 là đặc hiệu với protein đích thứ hai (hoặc IL23A hoặc BAFF). Ô bên trên thể hiện mỗi chuỗi polypeptit riêng biệt. Ô bên dưới thể hiện hợp chất hóa trị bốn (ví dụ, monome, kháng thể monome như mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế) được tạo ra qua sự kết hợp của các vùng chức năng CH2 và CH3 của một polypeptit thứ nhất với các vùng chức năng CH2 và CH3 của polypeptit thứ nhất còn lại. Các vùng chức năng gắn kết của protein đích thứ nhất và thứ hai lần lượt được tạo ra qua sự kết

hợp của VH_1 và VL_1 và qua sự kết hợp VH_2 và VL_2. Hợp chất này còn được kết hợp qua các tương tác giữa các vùng chức năng CL và CH1.

FIG.2 là đồ thị thể hiện nồng độ huyết thanh (giá trị trung bình ± SD) của hợp chất A (hình vuông đặc), hợp chất B (hình vuông rỗng), hợp chất C (tam giác đặc) và hợp chất D (tam giác rỗng) ở khỉ đuôi dài đực sau một liều trong tĩnh mạch 1mg/kg, như mô tả trong Ví dụ 10.

FIG.3 thể hiện profin nồng độ huyết thanh-thời gian ở người theo dự đoán của Hợp chất B, sau liều 100mg tiêm dưới da sử dụng một lần mỗi hai tuần, như mô tả trong Ví dụ 11. Đường chấm chấm thể hiện C_{min} đích (30nM).

FIG.4 thể hiện tổng kết bằng đồ thị của phần trăm monome so với nồng độ của hợp chất B, như mô tả trong Ví dụ 14.

FIG.5 thể hiện là hợp chất B duy trì hiệu lực chức năng đối với kháng-BAFF *in vivo*. Chuột được dùng lượng đẳng mol với kháng-BAFF hoặc hợp chất B và kích thích bởi plasmit vòng kích thước nhỏ BAFF của người để gây ra sự nhân rộng tế bào B. Vào ngày thứ 14, lách được thu lấy và phân tích bằng máy đếm dòng tế bào đối với tế bào B B220+ B chuột là một chỉ số đo của mức phong bế chức năng BAFF.

FIG.6 thể hiện rằng hợp chất B duy trì hiệu lực chức năng đối với kháng-IL23 *in vivo*. Đánh giá hợp chất B trong thử nghiệm xytokin do IL23. Chuột được dùng lượng đẳng mol với chất kháng-IL23 hoặc hợp chất B và kích thích bởi IL23 của người hai lần để gây viêm tai. 24 giờ sau lần tiêm cuối, tai được lấy mẫu và phân tích mức IL17A của chuột và IL22 của chuột là chỉ số đo sự phong bế chức năng IL23.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong đây mô tả hợp chất gắn kết với cả BAFF và IL-23A (cũng gọi là IL23p19 hoặc IL23A). Cho đến nay, chưa có hợp chất được chấp thuận mà chọn đích cả BAFF và IL23A. Đã có các nghiên cứu còn hạn chế về sự trung hòa đồng thời hai/nhiều chất trung gian gây viêm then chốt bằng liệu pháp điều trị sinh học phân tử và các nghiên cứu này đã không thể chỉ ra sự cải thiện của kết quả lâm sàng đo được với bệnh viêm khớp dạng thấp (RA). Ngoài ra, việc kết hợp như vậy có thể làm tăng tác dụng phụ, như nguy cơ nhiễm trùng (xem, ví dụ, Genovese, M.C., Cohen, S., Moreland, L., Lium,

D., Robbins, S., và cộng sự (2004). *Arth. Rheum. 50, 1412-9;* Genovese, M.C., Cohen, S., Moreland, L., Lium, D., Robbins, S., và cộng sự *(2004). Arth. Rheum. 50, 1412-9;* và Weinblatt, M., Schiff, M., Goldman, A. Kremer, J., Luggen, M., và cộng sự *(2007). Ann.Rheum.Dis.66, 228-34).* Hơn nữa, các hợp chất đặc hiệu kép như vậy khó thiết kế, do vấn đề liên quan đến độ hòa tan (ví dụ, sự kết tụ) và độ ổn định (ví dụ, dược động học kém).

Ngạc nhiên là, một số hợp chất mô tả trong đây gắn kết với BAFF và IL-23A đã được phát hiện ra là có đặc điểm tương tự hoặc cải thiện so với kháng thể riêng biệt chọn đích hoặc là IL-23A hoặc là BAFF. Một số hợp chất cũng được thấy là có thông số dược động học thích hợp và tan được trong các khoảng thích hợp với mục đích dùng thuốc. Hơn nữa, theo một số phương án, có thuận lợi của việc sử dụng đơn độc so với việc sử dụng nhiều liều riêng biệt về mặt tác dụng phụ của các liệu pháp riêng biệt, và liều thấp hơn. Ngoài ra, theo một số phương án, đặc tính CMC của các hợp chất thể hiện rằng một số hợp chất có nhiệt độ nóng chảy (melting temperature - Tm) cao và mức kết tụ thấp. Theo một khía cạnh, một hợp chất ví dụ thể hiện mức kết tụ đặc biệt thấp ở các nồng độ cao. Tin rằng các hợp chất mô tả trong đây có một hoặc nhiều đặc điểm thuận lợi, ví dụ, tác dụng phụ giảm, sự thuận tiện và độ an toàn khi sử dụng tăng lên, thời gian bán thải tăng lên, ái lực gắn kết tăng lên, hoặc hoạt tính ức chế tăng lên, so với phân tử kháng thể chuẩn, ví dụ, phân tử IgG hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên (ví dụ, Fab).

Theo đó, các khía cạnh của sáng chế đề cập đến hợp chất đặc hiệu với cả BAFF và IL-23A, cũng như phương pháp sử dụng và tạo ra hợp chất này. Theo một khía cạnh, đối tượng kỹ thuật đề cập đến dược phẩm có hiệu lực tăng lên để điều trị và phòng các bệnh viêm và tự miễn, như luput ban đỏ toàn thân (SLE), luput ban đỏ toàn thân có tổn thương thận/viêm thận luput (Lupus Nephritis - LN), viêm mạch liên quan đến ANCA (ANCA-associated vasculitis - AAV), hội chứng Sjogren nguyên phát (primary Sjogren's syndrome - pSS), bệnh mảnh ghép chống thể chủ mãn tính (chronic graft versus host disease - cGVHD), xơ cứng toàn thân (systemic sclerosis - SSc), viêm khớp dạng thấp (RA), bệnh vảy nến (Psoriasis - Ps), viêm đốt sống dạng thấp (Ankylosing Spondylitis - AS), và viêm khớp vảy nến (PA). Chất đối kháng kép BAFF/IL23A sẽ ức chế cả phức tự kháng thể/tự miễn và thương tổn cấp tính cơ quan

sinh tử do trục IL23, và có thể đạt được mức cảm ứng vượt trội và duy trì đáp ứng lâm sàng cao hơn so với Tiêu chuẩn điều trị SLE và LN hiện hành. So với việc sử dụng đồng thời kháng thể BAFF và kháng thể IL-23 để ức chế cả hai con đường cùng lúc, chất đối kháng kép BAFF/IL23A thuận tiện hơn cho bệnh nhân có thể khiến cho việc tuân thủ điều trị tốt hơn và giảm đau. Chất đối kháng kép BAFF/IL23A nên được cho phép sử dụng với các liều giảm, cũng như làm giảm chi phí liên quan đến điều trị. Ngoài ra, chất đối kháng BAFF/IL23A cũng có lợi ích trong điều trị nhiều bệnh liên quan đến tế bào B/tự kháng thể rối loạn chức năng và tổn thương mô do IL23 bao gồm hội chứng Sjogren nguyên phát (pSS), bệnh mảnh ghép chống thể chủ mãn tính (cGVHD), xơ cứng toàn thân (SSc) và viêm mạch liên quan đến ANCA (AAV).

Có sự khó khăn để thiết kế phân tử điều trị hướng đích kép mang hai dược chất cùng với nhau và duy trì được hiệu lực chức năng của mỗi thành phần, trong khi đó cùng lúc có đặc điểm lý sinh thích hợp để sản xuất quy mô lớn. Việc phát triển các phân tử hướng đích kép bị cản trở vì nhiều vấn đề liên quan đến độ ổn định *in vitro* và *in vivo*, như mức biểu hiện kém, sự kết tụ, thời gian sử dụng hạn chế, độ ổn định trong huyết thanh kém và đặc điểm dược động học *in vivo* kém (Demarest SJ, Glaser SM. (2008). Curr Opin Drug Discov Devel. 11, 675–87).

Trong đây chúng tôi bộc lộ phương pháp để tạo ra phân tử hướng đích kép ức chế cả chức năng BAFF và IL23. Phân tử hướng đích kép của giải pháp kỹ thuật theo sáng chế có thuận lợi và đặc điểm đáng ngạc nghiên như nhiệt độ nóng chảy (Tm) cao, mức sự kết tụ thấp ở nồng độ cao, và đặc tính PK được dự đoán ở người cho phép dùng tiêm dưới da một lần mỗi hai tuần hoặc ít hơn.

Hợp chất

Các khía cạnh của sáng chế đề cập đến hợp chất đặc hiệu với cả BAFF và IL23A. Một trình tự protein ví dụ của BAFF và một trình tự protein ví dụ của IL23A được nêu sau đây.

>sp|Q9Y275|Yếu tố hoạt hóa tế bào B (BAFF) - TN13B_HUMAN Chất 13B thuộc siêu họ yếu tố hoại tử khối u phối tử OS=Người hiện đại GN=TNFSF13B PE=1 SV=1

MDDSTEREQSRLTSCLKKREEMKLKECVSILPRKESPSVRSSKDGKLLAATLLL

ALLSCCLTVVSFYQVAALQGDLASLRAELQGHHAEKLPAGAGAPKAGLEEAP
AVTAGLKIFEPPAPGEGNSSQNSRNKRAVQGPEETVTQDCLQLIADSETPTIQK
GSYTFVPWLLSFKRGSALEEKENKILVKETGYFFIYGQVLYTDKTYAMGHLIQ
RKKVHVFGDELSLVTLFRCIQNMPETLPNNSCYSAGIAKLEEGDELQLAIPREN
AQISLDGDVTFFGALKLL(SEQ ID NO:80)

>NP_057668.1 – IL23A [Người hiện đại]

MLGSRAVMLLLLLPWTAQGRAVPGGSSPAWTQCQQLSQKLCTLAWSAHPLV
GHMDLREEGDEETTNDVPHIQCGDGCDPQGLRDNSQFCLQRIHQGLIFYEKLL
GSDIFTGEPSLLPDSPVGQLHASLLGLSQLLQPEGHHWETQQIPSLSPSQPWQR
LLLRFKILRSLQAFVAVAARVFAHGAATLSP (axit amin 1-19 là trình tự tín hiệu dự đoán)(SEQ ID NO:81)

Theo một số phương án, hợp chất bao gồm polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai. Theo một số phương án, polypeptit thứ nhất bao gồm (i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất, (ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai; và (iii) vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3). Theo một số phương án, polypeptit thứ nhất còn bao gồm vùng cố định chuỗi nặng 1 (CH1). Theo một số phương án, polypeptit thứ hai bao gồm: (i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai; (ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất. Theo một số phương án, polypeptit thứ hai còn bao gồm vùng cố định chuỗi nhẹ (CL).

Cần phải hiểu rằng các vùng chức năng biến đổi và vùng/vùng chức năng cố định của polypeptit thứ nhất có thể theo thứ tự bất kỳ và vùng chức năng biến đổi và vùng/vùng chức năng cố định (nếu có) của polypeptit thứ hai có thể theo thứ tự bất kỳ. Nhiều cấu hình ví dụ của vùng/vùng chức năng nằm trên polypeptit thứ nhất và thứ hai từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C được trình bày sau đây.

Cấu hình polypeptit thứ nhất 1: N-VL1-VH2-vùng bản lề-CH2-CH3-C

Cấu hình polypeptit thứ nhất 2: N-VH2-VL1-vùng bản lề-CH2-CH3-C

Cấu hình polypeptit thứ nhất 3: N-VL1-VH2-CH1-vùng bản lề-CH2-CH3-C

Cấu hình polypeptit thứ nhất 4: N-VH2-VL1-CH1-vùng bản lề-CH2-CH3-C

Cấu hình polypeptit thứ hai 1: N-VL2-VH1-C

Cấu hình polypeptit thứ hai 2: N-VH1-VL2-C

Cấu hình polypeptit thứ hai 3: N-VL2-VH1-CL-C

Cấu hình polypeptit thứ hai 4: N-VH1-VL2-CL-C

Cấu hình ví dụ của hợp chất này được trình bày trong FIG.1A và 1B.

Theo một số phương án, vùng biến đổi của polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai kết hợp với một vùng khác để tạo ra vị trí gắn kết cho protein đích thứ nhất và vị trí gắn kết của protein đích thứ hai. Theo một số phương án, VL1 của polypeptit thứ nhất và VH1 của polypeptit thứ hai kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất và VL2 của polypeptit thứ hai và VH2 của polypeptit thứ nhất kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ hai. Theo một số phương án, protein đích thứ nhất là BAFF và protein đích thứ hai là IL23A. Theo các phương án khác, protein đích thứ nhất là IL23A và protein đích thứ hai là BAFF. Phải hiểu rằng thuận ngữ "thứ nhất" và "thứ hai" không có ý nghĩa về mức độ quan trọng của cả hai protein đích.

Sự kết hợp ví dụ của các trình tự của mỗi VL1, VH1, VL2, và VH2 được nêu trong Bảng 1 và cũng trong Bảng 2 trong Ví dụ 1.

Bảng 1. Các cách kết hợp ví dụ của các trình tự của VL1, VH1, VL2, và VH2.

Số thứ tự cách kết hợp	**Trình tự VL1**	**Trình tự VH1**	**Trình tự VL2**	**Trình tự VH2**
1	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
2	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:1
3	SEQ ID NO:85	SEQ ID NO:84	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 3
4	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:85	SEQ ID NO:84

5	SEQ ID NO:87	SEQ ID NO:86	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
6	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:87	SEQ ID NO:86
7	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:88	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
8	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:88
9	SEQ ID NO:91	SEQ ID NO:90	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
10	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:91	SEQ ID NO:90

Theo một số phương án, hợp chất bao gồm trình tự VL1 bao gồm chuỗi nhẹ thứ nhất CDR1, CDR2, và CDR3 và trình tự VH1 bao gồm chuỗi nặng thứ nhất CDR1, CDR2, và CDR3, trình tự VL2 bao gồm chuỗi nhẹ thứ hai CDR1, CDR2 và CDR3, và trình tự VH2 bao gồm chuỗi nặng thứ hai CDR1, CDR2, và CDR3. Theo một số phương án, CDR là các CDR của một hoặc nhiều trình tự VL1, VH1, VL2, và VH2 nêu trong Bảng 1. Trình tự CDR chuỗi nhẹ và chuỗi nặng ví dụ của trình tự VL1, VH1, VL2, và VH2 nêu trong Bảng 1 được nêu sau đây:

SEQ ID NO: 1 CDR: GGTFNNNAIN (SEQ ID NO:92) (CDR1), GIIPMFGTAKYSQNFQG (SEQ ID NO:93) (CDR2), SRDLLLFPHHALSP (SEQ ID NO:94) (CDR3)

SEQ ID NO: 2 CDR: QGDSLRSYYAS (SEQ ID NO:95) (CDR1), GKNNRPS (SEQ ID NO:96) (CDR2), SSRDSSGNHWV (SEQ ID NO:97) (CDR3)

SEQ ID NO: 3 CDR: GYTFTDQTIH (SEQ ID NO:98) (CDR1), YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO:99) (CDR2), PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO:100) (CDR3)

SEQ ID NO: 4 CDR: KASRDVAIAVA (SEQ ID NO:101) (CDR1), WASTRHT (SEQ ID NO:102) (CDR2), HQYSSYPFT (SEQ ID NO:103) (CDR3)

SEQ ID NO: 84 CDR: DHIFSIHWMQ (SEQ ID NO:104) (CDR1), EIFPGSGTTDYNEKFKG (SEQ ID NO:105) (CDR2), GAFDY (SEQ ID NO:106) (CDR3)

SEQ ID NO: 85 CDR: RASQDIGNRLS (SEQ ID NO:107) (CDR1 ATSSLDS (SEQ ID NO:108) (CDR2), LQYASSPFT (SEQ ID NO:109) (CDR3)

SEQ ID NO: 86 CDR: DHIFSIHWMQ (SEQ ID NO:110) (CDR1), EIFPGSGTTDYNEKFKG (SEQ ID NO:111) (CDR2), GAFDY (SEQ ID NO: 112) (CDR3)

SEQ ID NO: 87 CDR: RASQDIGNRLN (SEQ ID NO:112) (CDR1 ATSSLDS (SEQ ID NO:113) (CDR2), LQYASSPFT (SEQ ID NO:114) (CDR3)

SEQ ID NO: 88 CDR: GYSFSTFFIH (SEQ ID NO:115) (CDR1), RIDPNSGATKYNEKFES (SEQ ID NO:116) (CDR2), GEDLLIRTDALDY (SEQ ID NO:117) (CDR3)

SEQ ID NO: 89 CDR: KASQNAGIDVA (SEQ ID NO:118) (CDR1), SKSNRYT (SEQ ID NO: 119) (CDR2), LQYRSYPRT (SEQ ID NO:120) (CDR3)

SEQ ID NO: 90 CDR: GYSFSTFFIH (SEQ ID NO:121) (CDR1), GRIDPNSGATKYNEKFES (SEQ ID NO:122) (CDR2), GEDLLIRTDALDY (SEQ ID NO:123) (CDR3)

SEQ ID NO: 91 CDR: KASQNAGIDVA (SEQ ID NO:124) (CDR1), SKSNRYT (SEQ ID NO:125) (CDR2), LQYRSYPRT (SEQ ID NO:126) (CDR3)

Theo một số phương án, hợp chất bao gồm VH1, VL1, VH2, và/hoặc VL2 bao gồm trình tự tương đồng ít nhất 80% (ví dụ, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%) (gốc trên gốc với chiều dài toàn bộ của trình tự) với trình tự mô tả trong Bảng 1. "Phần trăm tương đồng" của hai trình tự axit amin được xác định bởi thuật toán Karlin và Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68, 1990, điều chỉnh như trong Karlin và Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77, 1993. Thuật toán này được đưa vào chương trình NBLAST và XBLAST (phiên bản 2.0) của Altschul, và cộng sự J.

Mol. Biol. 215:403-10, 1990. Các nghiên cứu BLAST của protein có thể được thực hiện với chương trình XBLAST, điểm số =50, độ dài từ=3 để thu được trình tự axit amin tương đồng với phân tử protein quan tâm. Khi có khoảng trống giữa hai trình tự, chương trình Gapped BLAST có thể được sử dụng như mô tả trong Altschul và cộng sự, Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997. Khi sử dụng chương trình BLASAST, các thông số mặc định của các chương trình tương ứng (ví dụ, XBLAST và NBLAST) có thể đượT và Gapped BLc sử dụng.

Theo một số phương án, hợp chất bao gồm VH1, VL1, VH2, và/hoặc VL2 mà bao gồm trình tự gồm có một hoặc nhiều (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 hoặc hơn) đột biến trong trình tự được mô tả trong Bảng 1. Các đột biến này có thể là các axit amin thế kiểu bảo tồn. Như sử dụng trong đây, "axit amin thế kiểu bảo tồn" để chỉ đến việc thế một axit amin không làm thay đổi điện tích tương đối hoặc đặc điểm kích thước của protein trong đó có thế axit amin này. Việc thế axit amin kiểu bảo tồn bao gồm, ví dụ, axit amin thế thực hiện trong số các axit amin trong nhóm sau: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; và (g) E, D.

Trình tự axit amin của vùng bản lề, CH2 và CH3 của hợp chất (và tùy chọn, CH1 và CL, nếu hợp chất chứa các vùng này) có thể có nguồn gốc từ nguồn thích hợp bất kỳ, ví dụ, vùng cố định của kháng thể như IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4. Trình tự axit amin vùng cố định chuỗi nhẹ và nặng của kháng thể đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, được nêu trong dữ liệu IMGT (www.imgt.org) hoặc tại www.vbase2.org/vbstat.php., cả hai được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Hơn nữa, trong một số hệ biểu hiện, gốc lysin ở đầu tận cùng C của vùng chức năng CH3 có thể được loại bỏ sau khi phiên mã. Theo đó, gốc lysin ở đầu tận cùng C của vùng chức năng CH3 là gốc axit amin tùy chọn. Đặc biệt được đề xuất bởi sáng chế là các phân tử không có gốc lysin ở đầu tận cùng C của vùng chức năng CH3. Cũng đặc biệt bao gồm trong sáng chế là các cấu trúc chứa gốc lysin ở đầu tận cùng C của vùng chức năng CH3. Theo một số phương án, trình tự axit amin của CH2 và CH3 có nguồn gốc từ IgG1 (ví dụ, SEQ ID NO:75) hoặc IgG4 (ví dụ, SEQ ID NO:73). Theo một số phương án, CL bao gồm trình tự axit amin của kappa CL hoặc lambda CL. Theo một số phương án, vùng bản lề bao gồm trình tự axit amin EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 76). Vùng bản lề của SEQ ID NO:76 xuất hiện trong, ví dụ, polypeptit SEQ ID

NO:5. Theo các phương án khác, vùng bản lề bao gồm trình tự axit amin LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130). Vùng bản lề của SEQ ID NO:130 xuất hiện trong, ví dụ, polypeptit SEQ ID NO:9. Vùng bản lề của SEQ ID NO:130 cũng có ở phần đầu của vùng chức năng Fc của SEQ ID NO:129. Theo một phương án khác nữa, vùng bản lề bao gồm trình tự axit amin ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). Vùng bản lề của SEQ ID NO:134 xuất hiện trong, ví dụ, polypeptit SEQ ID NO:13. Vùng bản lề của SEQ ID NO:134 cũng xuất hiện ở phần đầu của vùng chức năng Fc của SEQ ID NO:127.

Theo một số phương án, CH2 và/hoặc CH3 của hợp chất (và tùy chọn, CH1 và CL, nếu hợp chất chứa các vùng này) có thể bao gồm một hoặc nhiều axit amin thay thế khác với CH2 hoặc CH3 kiểu dại, ví dụ, một hoặc nhiều axit amin thay thế trong CH2 hoặc CH3 kiểu dại của IgG1 hoặc một hoặc nhiều axit amin thay thế trong CH2 hoặc CH3 kiểu dại của IgG4 (SEQ ID NO: 39 là IgG1 kiểu dại ví dụ). Các axit amin thay thế đã biết trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, US7704497, US7083784, US6821505, US 8323962, US6737056, và US7416727).

Theo một số phương án, CH2 bao gồm axit amin thay thế ở vị trí 234, 235, 252, 254, và/hoặc 256, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat cho kháng thể thông thường (Kabat và cộng sự Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services, 1991, được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn). Cần phải hiểu là tất cả các vị trí axit amin mô tả trong đây để chỉ việc đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat cho kháng thể thông thường. Theo một số phương án, CH2 bao gồm axit amin thay thế ở vị trí 252, 254, và/hoặc 256. Theo một số phương án, axit amin ở vị trí 252 là tyrosin, phenylalanin, serin, tryptophan, hoặc threonin. Theo một số phương án, axit amin ở vị trí 254 là threonin. Theo một số phương án, axit amin ở vị trí 254 là serin, arginin, glutamin, axit glutamic, hoặc axit aspartic. Theo một số phương án, CH2 bao gồm tyrosin ở vị trí 252, threonin ở vị trí 254 và axit glutamic ở vị trí 256 (trong đây được gọi là đột biến YTE). Theo một số phương án, CH2 bao gồm axit amin thay thế ở vị trí 234 và/hoặc 235. Theo một số phương án, CH2 bao gồm alanin ở vị trí 234 và alanin ở vị trí 235, trong đây cũng được gọi là đột biến KO. Theo một số phương án, CH2 bao gồm tyrosin ở vị trí 252, threonin ở vị trí 254, axit glutamic ở vị trí 256, alanin ở vị trí 234 và alanin ở vị trí

235, trong đây cũng được gọi là đột biến KO-YTE.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều cầu nối có thể được sử dụng để nối vùng/vùng chức năng với nhau trên polypeptit thứ nhất và/hoặc thứ hai. Ví dụ, polypeptit thứ nhất có thể bao gồm cầu nối giữa VL1 và VH2. Polypeptit thứ nhất còn bao gồm cầu nối giữa VL1 hoặc VH2 (phụ thuộc vào cấu hình như bàn luận ở trên) và vùng bản lề (ví dụ, -VL1-cầu nối-vùng bản lề hoặc -VH2-cầu nối-vùng bản lề). Nếu polypeptit thứ nhất bao gồm CH1, *ví dụ*, polypeptit thứ nhất có thể bao gồm cầu nối giữa VL1 hoặc VH2 (phụ thuộc vào cấu hình như bàn luận ở trên) và CH1 (ví dụ, -VL1-cầu nối-CH1 hoặc -VH2-cầu nối-CH1). Trong ví dụ khác, polypeptit thứ hai có thể bao gồm cầu nối giữa VL2 và VH1. Polypeptit thứ hai còn có thể bao gồm cầu nối sau VL2 hoặc VH1 (phụ thuộc vào cấu hình bàn luận ở trên, ví dụ, -VL2-cầu nối hoặc -VH1-cầu nối) ở đầu tận cùng C của chuỗi polypeptit. Nếu polypeptit thứ hai còn bao gồm CL, polypeptit thứ hai này còn có thể bao gồm cầu nối giữa VL2 hoặc VH1 (phụ thuộc vào cấu hình như bàn luận ở trên) và CL (như trong, ví dụ, -VL2-cầu nối-CL hoặc -VH1-cầu nối-CL). Cần phải hiểu rằng có thể sử dụng một số lượng cầu nối bất kỳ để nối vùng chức năng hoặc vùng bất kỳ với vùng chức năng hoặc vùng bất kỳ khác trên polypeptit thứ nhất và/hoặc số cầu nối bất kỳ có thể được sử dụng để nối vùng chức năng hoặc vùng bất kỳ với vùng chức năng hoặc vùng bất kỳ khác trên polypeptit thứ hai.

Cầu nối thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này được dự tính để sử dụng trong đây. Theo một số phương án, cầu nối là cầu nối peptit. Theo một số phương án, cầu nối peptit bao gồm ít nhất hai axit amin, ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 axit amin hoặc nhiều hơn. Theo một số phương án, cầu nối peptit dài không quá 50, 40, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, hoặc 2 axit amin. Theo một số phương án, cầu nối peptit có chiều dài nằm trong khoảng từ 2 đến 50, từ 2 đến 40, từ 2 đến 30, từ 2 đến 20, từ 2 đến 10, từ 2 đến 9, từ 2 đến 8, từ 2 đến 7, hoặc từ 2 đến 6 axit amin. Theo một số phương án, cầu nối peptit bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69), LGGGSG (SEQ ID NO:70), FNRGEC (SEQ ID NO:71), VEPKSC (SEQ ID NO:72), GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82), GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83) hoặc các

cách kết hợp của chúng. Theo một số phương án, cầu nối peptit có thể bao gồm nhiều bản sao của cầu nối, ví dụ, nhiều bản sao của trình tự GGGSGGGG (SEQ ID NO:69), LGGGSG (SEQ ID NO:70), FNRGEC (SEQ ID NO:71), VEPKSC (SEQ ID NO:72), hoặc cách kết hợp của chúng.

Theo một số phương án, polypeptit thứ nhất và thứ hai có cấu hình sau:

Cấu hình polypeptit thứ nhất 1: N-VL1-VH2-vùng bản lề-CH2-CH3-C,

Cấu hình polypeptit thứ nhất 2: N-VH2-VL1-vùng bản lề-CH2-CH3-C,

Cấu hình polypeptit thứ hai 1: N-VL2-VH1-C,

Cấu hình polypeptit thứ hai 2: N-VH1-VL2-C,

trong đó cầu nối thứ nhất giữa VL1 và VH2 của polypeptit thứ nhất hoặc cầu nối thứ hai giữa VL2 và VH1 của polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất và cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, polypeptit thứ nhất còn bao gồm cầu nối thứ ba giữa VH2 hoặc VL2 và vùng bản lề và polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ tư sau VH1 hoặc VL2 (ở đầu tận cùng C của nó). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba của polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82), và cầu nối thứ tư của polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). Theo các phương án khác, cầu nối thứ ba của polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83), và cầu nối thứ tư của polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba của polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) hoặc trình tự axit amin GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). Theo các phương án khác, cầu nối thứ tư của polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK (SEQ ID NO:82) hoặc trình tự axit amin

GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE (SEQ ID NO:83). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba bao gồm trình tự axit amin VEPKSC (SEQ ID NO:72) hoặc trình tự axit amin FNRGEC (SEQ ID NO:71). Theo một số phương án, cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin FNRGEC (SEQ ID NO:71) hoặc trình tự axit amin VEPKSC (SEQ ID NO:72). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba bao gồm trình tự axit amin VEPKSC (SEQ ID NO:72) và cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin FNRGEC (SEQ ID NO:71). Trình tự axit amin FNRGEC (SEQ ID NO:71) là sáu gốc axit amin cuối cùng của vùng chức năng CL (SEQ ID NO:77) và axit amin VEPKSC (SEQ ID NO: 72) bao gồm axit amin cuối cùng của CH1 và năm gốc axit amin đầu tiên của vùng bản lề của SEQ ID NO:76 (như trong SEQ ID NO:5).

Theo một số phương án, polypeptit thứ nhất và thứ hai có cấu hình sau:

Cấu hình polypeptit thứ nhất 3: N-VL1-VH2-CH1-vùng bản lề-CH2-CH3-C,

Cấu hình polypeptit thứ nhất 4: N-VH2-VL1-CH1-vùng bản lề-CH2-CH3-C,

Cấu hình polypeptit thứ hai 3: N-VL2-VH1-CL-C,

Cấu hình polypeptit thứ hai 4: N-VH1-VL2-CL-C,

trong đó cầu nối thứ nhất giữa VL1 và VH2 của polypeptit thứ nhất hoặc cầu nối thứ hai giữa VL2 và VH1 của polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất và cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, polypeptit thứ nhất này còn bao gồm cầu nối thứ ba giữa VH2 hoặc VL1 và CH1 và polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ tư giữa VH1 hoặc VL2 và CL. Theo một số phương án, cầu nối thứ ba hoặc cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin LGGGSG (SEQ ID NO:70). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin LGGGSG (SEQ ID NO:70). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và/hoặc cầu nối thứ tư bao gồm gốc cystein tùy chọn. Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và/hoặc cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin GGCGGG (SEQ ID NO:135) hoặc LGGCGGGS (SEQ ID NO:136).

Theo một số phương án, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm alanin ở vị trí 234 và alanin ở vị trí 235, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat cho kháng

thể thông thường.

Theo một số phương án, hợp chất bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai. Theo một số phương án, vùng bản lề, CH2 và CH3 của một trong số các polypeptit thứ nhất kết hợp với vùng bản lề, CH2 và CH3 của polypeptit thứ nhất còn lại để tạo ra phân tử bốn hóa trị (ví dụ, hai polypeptit thứ nhất tạo dime bằng cách kết hợp giữa các vùng chức năng CH2 và CH3, vùng bản lề tương ứng của chúng để tạo ra phân tử bốn hóa trị gồm hai vị trí gắn kết đặc hiệu với protein đích thứ nhất và hai vị trí gắn kết đặc hiệu với protein đích thứ hai), monome hoặc kháng thể monome như mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế. Nếu polypeptit thứ nhất còn bao gồm vùng chức năng CH1, và polypeptit thứ hai còn bao gồm vùng chức năng CL, các vùng chức năng CH1 và CL cũng có thể tham gia vào để tạo ra phân tử bốn hóa trị (ví dụ, hai polypeptit thứ nhất tạo dime bằng cách kết hợp giữa các vùng chức năng CH2 và CH3, vùng bản lề tương ứng của chúng, và CH1 của mỗi polypeptit thứ nhất kết hợp với CL của một polypeptit thứ hai để tạo ra phân tử bốn hóa trị bao gồm hai vị trí gắn kết cho protein đích thứ nhất và hai vị trí gắn kết cho protein đích thứ hai) monome, kháng thể monome như mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế. Theo một số phương án, hai polypeptit thứ nhất kết hợp với nhau qua ít nhất một liên kết disulfua. Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai, trong đó mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm cầu nối thứ ba, vùng bản lề, CH2 và CH3, và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm cầu nối thứ tư và trong đó vùng bản lề, CH2 và CH3 của một trong số các polypeptit thứ nhất kết hợp với vùng bản lề, CH2 và CH3 của polypeptit thứ nhất còn lại và cầu nối thứ ba của mỗi polypeptit thứ nhất kết hợp với cầu nối thứ tư của một polypeptit thứ hai để tạo ra phân tử bốn hóa trị (ví dụ, monome, kháng thể monome như mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế) (ví dụ, hợp chất U và T).

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất chứa hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai;

trong đó hai polypeptit thứ nhất kết hợp với nhau qua ít nhất một liên kết disulfua và trong đó mỗi polypeptit thứ nhất được kết hợp với một polypeptit thứ hai qua ít nhất một liên kết disulfua;

trong đó mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai;

(iii) vùng cố định chuỗi nặng 1 (CH1), vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3); và

trong đó mỗi polypeptit thứ hai bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai này;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất này;

(iii) vùng chức năng trong vùng cố định chuỗi nhẹ (CL);

trong đó vùng bản lề, CH2 và CH3 của một trong số các polypeptit thứ nhất kết hợp với vùng bản lề, CH2 và CH3 của polypeptit thứ nhất còn lại và CH1 của mỗi polypeptit thứ nhất kết hợp với CL của mỗi polypeptit thứ hai để tạo ra phân tử hóa trị bốn;

trong đó

a) VL1 và VH1 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất này;

b) VL2 và VH2 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ hai này;

c) vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm tyrosin ở vị trí 252, threonin ở vị trí 254 và axit glutamic ở vị trí 256, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat; và

d) protein đích thứ nhất này là BAFF và protein đích thứ hai này là IL-23A hoặc protein đích thứ nhất là IL-23A và protein đích thứ hai là BAFF,

và trong đó:

(i) VL1 bao gồm SEQ ID NO:2, VH1 bao gồm SEQ ID NO:1, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(ii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:2 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:1; hoặc

(iii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:85, VH1 bao gồm SEQ ID NO:84, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:4; hoặc

(iv) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:85 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:84; hoặc

(v) VL1 bao gồm SEQ ID NO:87, VH1 bao gồm SEQ ID NO:86, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(vi) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:87 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:86; hoặc

(vii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:89, VH1 bao gồm SEQ ID NO:88, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(viii) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:89 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:88; hoặc

(ix) VL1 bao gồm SEQ ID NO:91, VH1 bao gồm SEQ ID NO:90, VL2 bao gồm SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:3; hoặc

(x) VL1 bao gồm SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm SEQ ID NO:91 và VH2 bao gồm SEQ ID NO:90.

Theo một số phương án liên quan đến khía cạnh trên, mỗi polypeptit thứ nhất còn bao gồm cầu nối thứ nhất giữa VL1 và VH2, và mỗi polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ hai giữa VL2 và VH1. Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất hoặc

cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, cầu nối thứ nhất và cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69). Theo một số phương án, mỗi polypeptit thứ nhất còn bao gồm cầu nối thứ ba giữa VH2 hoặc VL1 và CH1, và mỗi polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ tư giữa VH1 hoặc VL2 và CL. Theo một số phương án, cầu nối thứ ba hoặc cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin LGGGSG (SEQ ID NO:70). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin LGGGSG (SEQ ID NO:70). Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và/hoặc cầu nối thứ tư bao gồm gốc cystein tùy chọn. Theo một số phương án, cầu nối thứ ba và/hoặc cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin GGCGGG (SEQ ID NO:135) hoặc LGGCGGGS (SEQ ID NO:136). Theo một số phương án, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm alanin ở vị trí 234 và alanin ở vị trí 235, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat. Theo một số phương án, trình tự axit amin của vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) hoặc vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3) có nguồn gốc từ IgG1 hoặc từ IgG4. Theo một số phương án, vùng bản lề bao gồm trình tự axit amin EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), trình tự axit amin LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) hoặc trình tự axit amin ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134). Theo một số phương án, (i) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; hoặc

(ii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; hoặc

(iii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:13 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:14; hoặc

(iv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; hoặc

(v) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:21 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:22; hoặc

(vi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:25 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:26; hoặc

(vii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:29 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30; hoặc

(viii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:33 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:34; hoặc

(ix) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:37 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:38; hoặc

(x) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:41 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:42; hoặc

(xi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:45 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:46; hoặc

(xii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:49 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:50; hoặc

(xiii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:53 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:54; hoặc

(xiv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:55 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:56; hoặc

(xv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:57 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:58; hoặc

(xvi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:59 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:60; hoặc

(xvii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:61 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:62; hoặc

(xviii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:63 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:64; hoặc

(xix) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:65 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:66; hoặc

(xx) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:67 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:68.

Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến hợp chất bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai; trong đó hai polypeptit thứ nhất kết hợp với nhau qua ít nhất một liên kết disulfua và trong đó mỗi polypeptit thứ nhất được kết hợp với một polypeptit thứ hai qua ít nhất một liên kết disulfua; và trong đó (i) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; hoặc

(ii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; hoặc

(iii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:13 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:14; hoặc

(iv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; hoặc

(v) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:21 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:22; hoặc

(vi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:25 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:26; hoặc

(vii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:29 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30; hoặc

(viii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:33 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:34; hoặc

(ix) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:37 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:38; hoặc

(x) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:41 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:42; hoặc

(xi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:45 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:46; hoặc

(xii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:49 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:50; hoặc

(xiii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:53 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:54; hoặc

(xiv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:55 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:56; hoặc

(xv) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:57 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:58; hoặc

(xvi) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:59 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:60; hoặc

(xvii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:61 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:62; hoặc

(xviii) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:63 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:64; hoặc

(xix) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:65 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:66; hoặc

(xx) mỗi polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:67 và mỗi polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:68.

Cũng dự tính trong sáng chế là các hợp chất khác cạnh tranh về gắn kết với hợp chất như mô tả trong đây, ví dụ, hợp chất thử nghiệm mà cạnh tranh với hợp chất như mô tả trong đây về gắn kết với BAFF và IL23A. Theo một số phương án, hợp chất thử nghiệm có thể có độ tương đồng trình tự ít nhất là 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% (axit amin trên axit amin trong chiều dài toàn bộ của trình tự) với hợp chất như mô tả trong đây. Sự gắn kết cạnh tranh có thể được xác định bằng thử nghiệm bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, gắn kết cân bằng, ELISA, cộng hưởng plasmon bề mặt, hoặc quang phổ.

Theo một số phương án, hợp chất mô tả trong đây gắn kết đặc hiệu với cả BAFF và IL23A. Một hợp chất "gắn kết đặc hiệu" với kháng nguyên hoặc epitop là một thuật ngữ đã hiểu rõ trong lĩnh vực này, và phương pháp để xác định sự gắn kết đặc hiệu này cũng đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Một phân tử được cho là biểu hiện "sự gắn kết đặc hiệu" nếu nó tương tác hoặc kết hợp thường xuyên hơn, nhanh

hơn, với thời gian lâu hơn và/hoặc với ái lực cao hơn với kháng nguyên đích cụ thể so với nó gắn kết với các đích khác. Một hợp chất "gắn kết đặc hiệu" với kháng nguyên hoặc epitop đích nếu nó gắn kết với ái lực, lực gắn kết cao hơn, dễ dàng hơn, và/hoặc với thời gian lâu hơn so với nó gắn kết với chất khác. Ví dụ, một hợp chất gắn kết đặc hiệu (hoặc ưu tiên) với một kháng nguyên (ví dụ, BAFF hoặc IL23A) hoặc epitop của kháng nguyên trong đó là một hợp chất gắn kết với kháng nguyên đích với ái lực, lực gắn kết cao hơn, dễ dàng hơn, và/hoặc với thời gian lâu hơn so với nó gắn kết với kháng nguyên khác hoặc epitop khác trong cùng kháng nguyên. Cũng hiểu rằng khi đọc định nghĩa này, ví dụ, một hợp chất gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên đích thứ nhất có thể hoặc không gắn kết đặc hiệu hoặc ưu tiên với kháng nguyên đích thứ hai. Như vậy, "gắn kết đặc hiệu" hoặc "gắn kết ưu tiên" không cần thiết phải (mặc dù nó có thể bao gồm) gắn kết loại trừ. Thông thường, nhưng không cần thiết, khi nói đến việc gắn kết có nghĩa là gắn kết ưu tiên. Trong một số ví dụ, hợp chất "gắn kết đặc hiệu" với kháng nguyên đích hoặc epitop của nó có thể không gắn kết với kháng nguyên khác hoặc hoặc epitop khác trong cùng kháng nguyên.

Theo một số phương án, hợp chất như mô tả trong đây có ái lực gắn kết thích hợp đối với BAFF và IL23 hoặc epitop của kháng nguyên của nó. Như sử dụng trong đây, "ái lực gắn kết" để chỉ hằng số kết hợp biểu kiến hoặc giá trị K_A. Giá trị K_A là giá trị nghịch đảo của hằng số phân ly (K_D). Hợp chất mô tả trong đây có thể có ái lực gắn kết (K_D) ít nhất là 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10}, 10^{-11}, 10^{-12} M hoặc thấp hơn đối với một hoặc cả hai kháng nguyên đích hoặc epitop của kháng nguyên. Ái lực gắn kết tăng lên tương ứng với giá trị K_D giảm đi. Theo một số phương án, hợp chất mô tả trong đây có ái lực gắn kết (K_D) ít nhất là 10^{-11}M hoặc thấp hơn đối với một hoặc cả hai kháng nguyên đích hoặc epitop của kháng nguyên. Sự gắn kết với ái lực cao hơn của hợp chất với kháng nguyên thứ nhất và kháng nguyên thứ hai so với kháng nguyên thứ ba có thể được chỉ thị bởi giá trị K_A cao hơn (hoặc giá trị số học K_D nhỏ hơn) đối với sự gắn kết kháng nguyên thứ nhất và kháng nguyên thứ hai cao hơn so với K_A (hoặc giá trị số học K_D) của sự gắn kết kháng nguyên thứ ba. Trong các trường hợp này, hợp chất có tính đặc hiệu với kháng nguyên thứ nhất và kháng nguyên thứ hai (ví dụ, protein thứ nhất trong cấu hình thứ nhất hoặc cấu hình giống vậy và protein thứ hai trong cấu hình thứ nhất hoặc cấu hình giống như vậy) so với kháng nguyên thứ ba (ví dụ, cùng protein

thứ nhất hoặc thứ hai trong cấu hình thứ hai hoặc cấu hình giống như vậy; hoặc protein thứ ba). Sự khác biệt về ái lực gắn kết (ví dụ, về tính đặc hiệu hoặc các chỉ số so sánh khác) có thể ít nhất là 1,5, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 37,5, 50, 70, 80, 91, 100, 500, 1000, 10,000 hoặc 10^5 lần.

Ái lực gắn kết (hoặc tính đặc hiệu gắn kết) có thể được xác định bằng nhiều phương pháp bao gồm, gắn kết cân bằng, ELISA, cộng hưởng plasmon bề mặt, hoặc quang phổ (ví dụ, sử dụng thử nghiệm huỳnh quang). Các điều kiện mẫu để đánh giá ái lực gắn kết là trong đệm HBS-P (HEPES 10mM độ pH = 7,4, NaCl 150mM, chất hoạt động bề mặt P20 nồng độ 0,005% (thể tích/thể tích)). Các kỹ thuật này có thể được sử dụng để đo nồng độ của protein gắn kết đã gắn kết là một hàm của nồng độ protein đích. Nồng độ của protein gắn kết đã gắn kết ([Đã gắn kết]) là tương ứng với nồng độ của protein đích tự do ([Tự do]) và nồng độ của vị trí gắn kết của protein gắn kết trên đích trong đó (N) là số vị trí gắn kết trên mỗi phân tử đích bằng phương trình sau:

[Đã gắn kết] = [N][Tự do]/(Kd+[Tự do])

Không thường xuyên phải xác định chính xác giá trị K_A, mặc dù, do đôi khi thu được giá trị định lượng của ái lực là đủ, ví dụ, xác định bằng phương pháp như phân tích ELISA hoặc FACS, ái lực này tỷ lệ thuận với giá trị K_A, và do đó có thể sử dụng để so sánh, như xác định rằng liệu ái lực cao hơn là, *ví dụ*, cao hơn 2 lần, để có được giá trị định lượng của ái lực, hoặc để suy ra ái lực, ví dụ, nhờ hoạt tính trong thử nghiệm chức năng, *ví dụ*, thử nghiệm in vitro hoặc in vivo.

Theo một số phương án, hợp chất bao gồm polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai như xác định trong Bảng 2A. Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm:

(i) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; hoặc

(ii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; hoặc

(iii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:9 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:10; hoặc

(iv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:11 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:12; hoặc

(v) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:13 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:14; hoặc

(vi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; hoặc

(vii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:17 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:18; hoặc

(viii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:19 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:20; hoặc

(ix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:21 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:22; hoặc

(x) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24; hoặc

(xi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:25 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:26; hoặc

(xii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:27 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:28; hoặc

(xiii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:29 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30; hoặc

(xiv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:32; hoặc

(xv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:33 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:34; hoặc

(xvi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:35 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:36; hoặc

(xvii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:37 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:38; hoặc

(xviii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:39 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:40; hoặc

(xix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:41 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:42; hoặc

(xx) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:43 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:44; hoặc

(xxi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:45 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:46; hoặc

(xxii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:47 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:48; hoặc

(xxiii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:49 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:50; hoặc

(xxiv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:51 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:52; hoặc

(xxv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:53 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:54; hoặc

(xxvi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:55 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:56; hoặc

(xxvii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:57 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:58; hoặc

(xxviii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:59 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:60; hoặc

(xxix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:61 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:62; hoặc

(xxx) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:63 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:64; hoặc

(xxxi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:65 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:66; hoặc

(xxxii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:67 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:68.

Phương pháp tạo ra hợp chất, axit nucleic, vectơ, và tế bào

Các khía cạnh của sáng chế cũng bao gồm axit nucleic mã hóa hợp chất mô tả trong đây hoặc polypeptit mô tả trong đây (ví dụ, polypeptit thứ nhất hoặc thứ hai mô tả trong đây), chúng có thể được mã hóa cùng nhau hoặc riêng biệt. Polynucleotit mã hóa các hợp chất mô tả trong đây hoặc polypeptit mô tả trong đây có thể thu được, và trình tự nucleotit của polynucleotit được xác định, bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này.

Theo một số phương án, axit nucleic được đưa vào trong vectơ, như vectơ biểu hiện. Theo một số phương án, vectơ này bao gồm gen khởi đầu được liên kết điều khiển với axit nucleic.

Các gen khởi đầu khác nhau có thể được sử dụng để biểu hiện hợp chất mô tả trong đây hoặc polypeptit mô tả trong đây, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, gen khởi đầu sớm tức thì của virut cự bào (cytomegalovirus - CMV), LTR virut như LTR của virut sacôm Rous, HIV-LTR, HTLV-1 LTR, gen khởi đầu sớm của virut khỉ 40 (SV40), gen khởi đầu *E. coli* lac UV5, và gen khởi đầu của virut Herpes Simplex tk.

Gen khởi đầu có thể điều hòa cũng có thể được sử dụng. Gen khởi đầu có thể điều hòa như vậy bao gồm các gen khởi đầu sử dụng yếu tố kìm hãm lac từ *E. coli* làm tác nhân điều biến phiên mã để điều hòa sự phiên mã từ các gen khởi đầu của tế bào động vật có vú mang vùng chỉ huy *lac* [Brown, M. và cộng sự, Cell, 49:603-612 (1987)], chúng sử dụng yếu tố kìm hãm tetraxyclin (tetracycline repressor - tetR) [Gossen, M., và Bujard, H., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:5547-5551 (1992); Yao, F. và cộng sự, Human Gene Therapy, 9:1939-1950 (1998); Shockelt, P., và cộng sự, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92:6522-6526 (1995)]. Các hệ khác bao gồm FK506 dime, VP16 hoặc p65 sử dụng astradiol, RU486, diphenol murisleron, hoặc rapamyxin. Các hệ gây cảm ứng là có sẵn từ Invitrogen, Clontech và Ariad.

Gen khởi đầu có thể điều hòa bao gồm yếu tố kìm hãm có operon có thể được sử dụng. Theo một phương án, yếu tố kìm hãm *lac* từ *Escherichia coli* có chức năng là

tác nhân điều biến phiên mã để điều hòa sự phiên mã từ gen khởi đầu của tế bào động vật có vú mang vùng chỉ huy lac [M. Brown và cộng sự, Cell, 49:603-612 (1987)]; Gossen và Bujard (1992); [M. Gossen và cộng sự, Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551 (1992)] kết hợp yếu tố kìm hãm tetraxyclin (tetR) với yếu tố kích hoạt phiên mã (VP 16) để tạo ra protein dung hợp kích hoạt phiên mã tế bào động vật có vú tetR, tTa (tetR-VP 16), với gen khởi đầu nhỏ nhất mang tetO có nguồn gốc từ gen khởi đầu sớm tức thì chính của virut cự bào gây bệnh ở người (hCMV) để tạo ra hệ gen điều khiển tetR-tet để kiểm soát sự biểu hiện gen ở tế bào động vật có vú. Theo một phương án, yếu tố gây cảm ứng tetraxyclin được sử dụng (Yao và cộng sự, Human Gene Therapy; Gossen và cộng sự, Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551 (1992); Shockett và cộng sự, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92:6522-6526 (1995)).

Ngoài ra, vectơ này có thể chứa, ví dụ, một số hoặc tất cả các yếu tố sau: gen đánh dấu chọn lọc, như gen neomyxin để chọn thể chuyển nhiễm tạm thời hoặc ổn định trong tế bào động vật có vú; trình tự gen tăng cường/gen khởi đầu từ gen sớm tức thì của CMV người có mức phiên mã cao; trình tự tín hiệu kết thúc phiên mã và xử lý ARN từ SV40 mang lại sự ổn định cho ARN thông tin; thể gốc của virut polyoma SV40 được sao chép và ColE1 để sao chép thể bổ sung thích hợp; vị trí gắn kết nội ribosom (IRES), vị trí đa tách dòng linh hoạt; và gen khởi đầu ARN T7 và SP6 để phiên mã in vitro cho ARN có nghĩa và đối nghĩa. Các vectơ và phương pháp thích hợp để tạo ra vectơ chứa gen biến đổi đã được biết rõ và có sẵn trong lĩnh vực này.

Vectơ biểu hiện bao gồm axit nucleic có thể được chuyển vào tế bào chủ bằng các kỹ thuật thông thường (ví dụ, kỹ thuật chuyển gen bằng xung điện, chuyển nạp bằng liposom, và kết tủa canxi phosphat) và sau đó các tế bào chuyển nạp được được nuôi cấy bằng kỹ thuật thông thường để tạo ra các hợp chất mô tả trong đây. Theo một số phương án, sự biểu hiện các hợp chất mô tả trong đây được điều hòa bởi gen khởi đầu cấu trúc, gen khởi đầu cảm ứng hoặc gen khởi đầu đặc hiệu với mô.

Tế bào chủ sử dụng để biểu hiện hợp chất mô tả trong đây hoặc polypeptit mô tả trong đây hoặc có thể là tế bào vi khuẩn như *Escherichia coli*, hoặc, tốt hơn là, tế bào có nhân điển hình. Cụ thể, tế bào động vật có vú, như tế bào buồng trứng chuột túi má Trung Quốc (Chinese hamster ovary - CHO), khi liên hợp với vectơ như yếu tố

khởi đầu của gen trung gian sớm chủ yếu từ virut cự bào ở người là một hệ biểu hiện có hiệu quả của globulin miễn dịch (Foecking và cộng sự (1986) "Powerful And Versatile Enhancer-Promoter Unit For Mammalian Expression Vectors," Gene 45:101-106; Cockett và cộng sự (1990) "High Level Expression Of Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases In Chinese Hamster Ovary Cells Using Glutamine Synthetase Gene Amplification," Biotechnology 8:662-667).

Rất nhiều hệ thể chủ-vectơ biểu hiện có thể được sử dụng để biểu hiện các hợp chất mô tả trong đây hoặc polypeptit mô tả trong đây. Các hệ thể chủ-vectơ biểu hiện như vậy là vật truyền mà bằng vật truyền này các trình tự mã hóa của hợp chất mô tả trong đây hoặc polypeptit mô tả trong đây có thể tạo ra và sau đó được tinh chế, nhưng cũng là các tế bào mà có thể, khi được biến nạp hoặc được chuyển nạp với trình tự mã hóa nucleotit thích hợp, sẽ biểu hiện hợp chất mô tả trong đây in situ. Các tế bào bao gồm, nhưng không giới hạn ở, vi sinh vật như vi khuẩn (ví dụ, *E. coli* và *B. subtilis*) được biến nạp với ADN thể thực khuẩn tái tổ hợp, ADN plasmit hoặc vectơ biểu hiện ADN cosmid chứa trình tự mã hóa của hợp chất mô tả trong đây; nấm men (ví dụ, *Saccharomyces pichia*) được biến nạp với vectơ biểu hiện của nấm men tái tổ hợp chứa trình tự mã hóa hợp chất mô tả trong đây; hệ tế bào côn trùng được chuyển nhiễm bởi vectơ biểu hiện của virut tái tổ hợp (ví dụ, baclovirut) chứa trình tự mã hóa hợp chất mô tả trong đây; hệ tế bào thực vật được chuyển nhiễm bởi vectơ biểu hiện của virut tái tổ hợp (ví dụ, virut khảm súp lơ (cauliflower mosaic virus - CaMV) và virut khảm thuốc lá (tobacco mosaic virus - TMV) hoặc được biến nạp với vectơ biểu hiện plasmit tái tổ hợp (ví dụ, plasmit Ti) chứa trình tự mã hóa phân tử hợp chất mô tả trong đây; hoặc hệ tế bào động vật có vú (ví dụ, tế bào COS, CHO, BHK, 293, 293T, 3T3, tế bào bạch huyết (xem Patent Mỹ số 5,807,715), các cấu trúc biểu hiện tái tổ hợp mang tế bào Per C.6 (tế bào võng mạch của người được phát triển bởi Crucell) chứa gen khởi đầu có nguồn gốc từ hệ gen của tế bào động vật có vú (ví dụ, gen khởi đầu metallothionein) hoặc từ virut ở động vật có vú (ví dụ, gen khởi đầu muộn của adenovirut; gen khởi đầu 7.5K của virut bệnh đậu bò).

Trong các hệ vi khuẩn, số vectơ biểu hiện có thể được chọn một cách thuận lợi phụ thuộc vào việc sử dụng dự tính đối với hợp chất được biểu hiện. Ví dụ, khi cần tạo ra một số lượng lớn của một protein như vậy, để tạo ra dược phẩm chứa hợp chất mô

tả trong đây, có thể mong muốn vectơ dẫn hướng biểu hiện các mức cao của sản phẩm protein dung hợp dễ dàng tinh chế. Các vectơ như vậy bao gồm, nhưng không hạn chế ở, vectơ biểu hiện *E. coli* pUR278 (Rüther và cộng sự (1983) "Easy Identification Of cDNA Clones," EMBO J. 2:1791-1794), trong đó trình tự mã hóa có thể được gắn riêng rẽ vào trong vectơ này trong khung có vùng mã hóa lac Z sao cho tạo ra protein dung hợp; vectơ pIN (Inouye và cộng sự (1985) "Up-Promoter Mutations In The lpp Gene Of Escherichia Coli," Nucleic Acids Res. 13:3101-3110; Van Heeke và cộng sự (1989) "Expression Of Human Asparagine Synthetase In Escherichia Coli," J. Biol. Chem. 24:5503-5509); và vectơ tương tự. Vectơ pGEX cũng có thể được sử dụng để biểu hiện polypeptit ngoại lai như protein dung hợp có glutathion S-transferaza (GST). Nói chung, các protein dung hợp như vậy là tan được và có thể tinh chế dễ dàng từ các tế bào phân giải được bằng cách hấp phụ và gắn kết với các hạt glutathion-agaroza nền sau đó rửa giải trong sự có mặt của glutathion tự do. Vectơ pGEX được thiết kế để chứa thrombin hoặc yếu tố Xa là vị trí tách proteaza sao cho sản phẩm gen đích đã tách dòng có thể được giải phóng từ gốc GST.

Trong hệ côn trùng, virut Autographa californica nuclear polyhedrosis (AcNPV) được sử dụng làm vectơ để biểu hiện gen ngoại lai. Virut này phát triển trong tế bào *Spodoptera frugiperda*. Trình tự mã hóa có thể được tách dòng riêng biệt vào trong các vùng không thiết yếu (ví dụ, gen polyhedrin) của virut và đặt dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu AcNPV (ví dụ, gen khởi đầu polyhedrin).

Trong tế bào chủ động vật có vú, có thể sử dụng một số hệ biểu hiện dựa trên virut. Trong trường hợp adenovirut được sử dụng làm vectơ biểu hiện, trình tự mã hóa được quan tâm có thể được gắn vào phức kiểm soát phiên mã/dịch mã adenovirut, ví dụ, gen khởi đầu muộn và trình tự dẫn đầu ba thành phần. Sau đó, gen khảm này có thể được lồng vào trong hệ gen adenovirut bằng kỹ thuật tái tổ hợp *in vitro* hoặc *in vivo*. Việc lồng vào trong vùng không thiết yếu của hệ gen virut (ví dụ, vùng E1 hoặc E3) sẽ tạo ra virut tái tổ hợp có khả năng tồn tại và có khả năng biểu hiện phân tử globulin miễn dịch trong thể chủ được chuyển nhiễm (ví dụ, xem Logan và cộng sự (1984) "Adenovirus Tripartite Leader Sequence Enhances Translation Of mRNAs Late After Infection," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3655-3659). Trình tự tín hiệu khởi đầu cụ thể cũng có thể cần phải có để dịch mã hiệu quả trình tự mã hóa kháng thể được lồng

vào. Các trình tự tín hiệu này bao gồm codon bắt đầu ATG và các trình tự gần kề. Hơn nữa, codon bắt đầu phải là cùng pha với khung đọc của trình tự mã hóa mong muốn để đảm bảo việc dịch mã của toàn bộ đoạn gen lồng này. Các trình tự tín hiệu kiểm soát dịch mã ngoại sinh này và codon khởi đầu có thể có nhiều nguồn gốc khác nhau, cả tự nhiên và tổng hợp. Mức hiệu quả của sự biểu hiện có thể tăng lên bằng cách lồng vào yếu tố tăng cường phiên mã, yếu tố kết thúc phiên mã thích hợp, v.v. (xem Bitter và cộng sự (1987) "Expression And Secretion Vectors For Yeast," Methods in Enzymol. 153:516-544).

Ngoài ra, chủng tế bào chủ có thể được chọn sẽ điều biến mức biểu hiện của trình tự được lồng vào, hoặc biến đổi và xử lý sản phẩm gen theo kiểu cụ thể mong muốn. Các kỹ thuật biến đổi như vậy (ví dụ, glycosyl hóa) và xử lý (ví dụ, tách) sản phẩm protein có thể là quan trọng đối với chức năng của protein. Ví dụ, theo một số phương án nhất định, các hợp chất mô tả trong đây có thể được biểu hiện là một sản phẩm gen đơn lẻ (ví dụ, chuỗi polypeptit đơn, tức là, là tiền chất polyprotein), đòi hỏi việc tách kiểu tiêu protein bởi cơ chế tế bào tái tổ hợp hoặc tự nhiên để tạo ra polypeptit riêng biệt của hợp chất mô tả trong đây. Bản mô tả do đó bao gồm việc thực hiện thao tác di truyền trình tự axit nucleic để mã hóa phân tử tiền chất polyprotein bao gồm polypeptit của hợp chất mô tả trong đây, bao gồm trình tự mã hóa có thể dẫn hướng sự tách sau dịch mã của tiền chất polyprotein này. Sự tách sau dịch mã của tiền chất polyprotein tạo ra polypeptit của hợp chất mô tả trong đây. Sự tách sau dịch mã của phân tử tiền chất bao gồm polypeptit của hợp chất mô tả trong đây có thể xảy ra *in vivo* (tức là, trong tế bào chủ theo hệ/cơ chế tế bào tái tổ hợp hoặc tự nhiên, ví dụ tách furin ở một vị trí thích hợp) hoặc có thể xảy ra *in vitro* (ví dụ, ủ chuỗi polypeptit này trong chế phẩm chứa proteaza hoặc peptidaza có hoạt tính đã biết và/hoặc trong chế phẩm có các điều kiện hoặc thuốc thử đã biết để thúc đẩy hoạt động tiêu protein mong muốn). Việc tinh chế và biến đổi protein tái tổ hợp đã được biết rõ trong lĩnh vực này sao cho thiết kế của tiền chất polyprotein có thể bao gồm một số phương án đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ. Proteaza hoặc peptidaza đã biết bất kỳ trong lĩnh vực này có thể được sử dụng cho việc biến đổi phân tử tiền chất đã được mô tả, ví dụ, thrombin hoặc yếu tố Xa (Nagai và cộng sự (1985) "Oxygen Binding Properties Of Human Mutant Hemoglobins Synthesized In Escherichia Coli,"

Proc. Nat. Acad. Sci. USA 82:7252-7255, và xem trong Jenny và cộng sự (2003) "A Critical Review Of The Methods For Cleavage Of Fusion Proteins With Thrombin And Factor Xa," Protein Expr. Purif. 31:1-11, mỗi tài liệu được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn)), enterokinaza (Collins-Racie và cộng sự (1995) "Production Of Recombinant Bovine Enterokinase Catalytic Subunit In Escherichia Coli Using The Novel Secretory Fusion Partner DsbA," Biotechnology 13:982-987 được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ)), furin, và AcTEV (Parks và cộng sự (1994) "Release Of Proteins and Peptides From Fusion Proteins Using A Recombinant Plant Virus Proteinase," Anal. Biochem. 216:413-417 được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn)) và proteaza C3 của virut gây bệnh chân tay miệng.

Các tế bào chủ khác nhau có cơ chế cụ thể và đặc trưng để xử lý sau dịch mã và biến đổi protein và sản phẩm gen. Các dòng tế bào hoặc hệ chủ thích hợp có thể được chọn để đảm bảo việc biến đổi và xử lý chính xác protein ngoại lai được biểu hiện. Cuối cùng, có thể sử dụng tế bào chủ có nhân điển hình có bộ máy tế bào để xử lý một cách thích hợp các bản sao sơ cấp, quá trình glycosyl hóa, và phosphoryl hóa sản phẩm gen. Tế bào chủ của động vật có vú như vậy bao gồm nhưng không giới hạn ở CHO, VERY, BHK, HeLa, COS, MDCK, 293, 293T, 3T3, WI38, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 và T47D, CRL7030 và Hs578Bst.

Để sản xuất protein tái tổ hợp một cách dài hạn, hiệu suất cao, ưu tiên hệ biểu hiện ổn định. Ví dụ, các dòng tế bào biểu hiện ổn định hợp chất mô tả trong đây có thể được thao tác di truyền. Thay vì sử dụng vectơ biểu hiện chứa thể virut gốc để sao chép, tế bào chủ có thể được biến nạp với ADN được kiểm soát bằng yếu tố kiểm soát biểu hiện thích hợp (ví dụ, gen khởi đầu, gen tăng cường, trình tự, yếu tố kết thúc phiên mã, vị trí polyadenyl hóa, v.v.), và yếu tố đánh dấu có thể lựa chọn. Sau khi đưa ADN ngoại lai vào, tế bào đã được thao tác di truyền có thể được để cho phát triển trong 1-2 ngày trong một môi trường tăng sinh, và sau đó được chuyển đến môi trường chọn lọc. Yếu tố đánh dấu có thể lựa chọn trong plasmit tái tổ hợp mang lại khả năng chống lại sự lựa chọn này và cho phép các tế bào hợp nhất ổn định plasmit này vào trong nhiễm sắc thể của chúng và phát triển để tạo ra các ổ gen mà lần lượt có thể được tách dòng và nhân lên trong các dòng tế bào. Phương pháp này có thể được sử dụng thuận lợi để thao tác di truyền các dòng tế bào biểu hiện hợp chất mô tả trong

đây. Các dòng tế bào đã được thao tác di truyền như vậy có thể đặc biệt hữu dụng trong việc sàng lọc và đánh giá các hợp chất có tương tác trực tiếp hoặc gián tiếp với hợp chất mô tả trong đây.

Một số hệ lựa chọn có thể sử dụng, bao gồm nhưng không giới hạn ở thymidin kinase của virut herpes simplex (Wigler và cộng sự (1977) "Transfer Of Purified Herpes Virus Thymidin Kinase Gene To Cultured Mouse Cells," Cell 11: 223-232), hypoxanthin-guanin phosphoribosyltransferaza (Szybalska và cộng sự (1992) "Use Of The HPRT Gene And The HAT Selection Technique In DNA-Mediated Transformation Of Mammalian Cells First Steps Toward Developing Hybridoma Techniques And Gene Therapy," Bioessays 14: 495-500), và adenin phosphoribosyltransferaza (Lowy và cộng sự (1980) "Isolation Of Transforming DNA: Cloning The Hamster aprt Gene," Cell 22: 817-823) các gen có thể lần lượt được sử dụng trong tế bào tk−, hgprt− hoặc aprt−. Cũng vậy, tính kháng chất chống chuyển hóa có thể được sử dụng làm tính chất cơ bản để lựa chọn đối với các gen sau: dhfr, gen mang lại tính kháng methotrexat (Wigler và cộng sự (1980) "Transformation Of Mammalian Cells With An Amplifiable Dominant-Acting Gene," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:3567-3570; O'Hare và cộng sự (1981) "Transformation Of Mouse Fibroblasts To Methotrexate Resistance By A Recombinant Plasmid Expressing A Prokaryotic Dihydrofolate Reductase," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 1527-1531); gpt, gen mang tính kháng axit mycophenolic (Mulligan và cộng sự (1981) "Selection For Animal Cells That Express The Escherichia coli Gene Coding For Xanthine-Guanine Phosphoribosyltransferase," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 2072-2076); neo, gen mang tính kháng aminoglycosit G-418 (Tolstoshev (1993) "Gene Therapy, Concepts, Current Trials and Future Directions," Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596; Mulligan (1993) "The Basic Science Of Gene Therapy," Science 260:926-932; và Morgan và cộng sự (1993) "Human Gene Therapy," Ann. Rev. Biochem. 62:191-217) và hygro, gen mang tính kháng hygromyxin (Santerre và cộng sự (1984) "Expression Of Prokaryotic Genes For Hygromycin B And G418 Resistance As Dominant-Selection Markers In Mouse L Cells," Gene 30:147-156). Phương pháp đã biết thông thường trong lĩnh vực kỹ thuật ADN tái tổ hợp có thể sử dụng được mô tả trong Ausubel và cộng sự (eds.), 1993,

Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY; Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY; và trong Chương 12 và 13, Dracopoli và cộng sự (eds), 1994, Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY.; Colberre-Garapin và cộng sự (1981) "A New Dominant Hybrid Selective Marker For Higher Eukaryotic Cells," J. Mol. Biol. 150:1-14.

Mức biểu hiện của hợp chất mô tả trong đây hoặc polypeptit mô tả trong đây có thể tăng lên bằng cách khuếch đại vectơ (để tham khảo, xem Bebbington và Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987). Khi yếu tố đánh dấu trong hệ vectơ biểu hiện hợp chất mô tả trong đây có thể khuếch đại, việc tăng mức chất ức chế có trong môi trường nuôi cấy tế bào chủ sẽ làm tăng số bản sao của gen đánh dấu. Do vùng khuếch đại được kết hợp với trình tự nucleotit của hợp chất mô tả trong đây hoặc polypeptit mô tả trong đây, mức sản sinh polypeptit cũng tăng lên (Crouse và cộng sự (1983) "Expression And Amplification Of Engineered Mouse Dihydrofolate Reductase Minigenes," Mol. Cell. Biol. 3:257-266).

Tế bào chủ có thể được đồng chuyển nạp với hai vectơ biểu hiện, vectơ thứ nhất mã hóa polypeptit thứ nhất của hợp chất mô tả trong đây và vectơ thứ hai mã hóa polypeptit thứ hai của hợp chất mô tả trong đây. Hai vectơ này có thể chứa yếu tố đánh dấu có thể lựa chọn giống nhau mà chúng có thể biểu hiện tương đương cả hai polypeptit. Một cách khác, có thể sử dụng một vectơ đơn lẻ mã hóa cả hai polypeptit. Các trình tự mã hóa của polypeptit của hợp chất mô tả trong đây có thể bao gồm ADN bổ trợ hoặc ADN của hệ gen.

Khi hợp chất mô tả trong đây hoặc polypeptit mô tả trong đây được biểu hiện tái tổ hợp, nó có thể được tinh chế bởi phương pháp đã biết bất kỳ trong lĩnh vực này để tinh chế polypeptit, polyprotein hoặc kháng thể (ví dụ, tương tự các sơ đồ tinh chế kháng thể dựa trên độ chọn lọc kháng nguyên) ví dụ, bằng sắc ký (ví dụ, trao đổi ion, ái lực, đặc biệt là theo ái lực của kháng nguyên cụ thể (tùy chọn sau bước lựa chọn Protein A trong đó hợp chất bao gồm vùng chức năng Fc (hoặc một phần của nó)), và sắc ký cột định cỡ), ly tâm, độ hòa tan chênh lệch, hoặc bởi các kỹ thuật chuẩn khác

bất kỳ để tinh chế polypeptit hoặc kháng thể.

Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến tế bào chứa axit nucleic mô tả trong đây hoặc vectơ mô tả trong đây. Tế bào này có thể là tế bào nhân rải rác hoặc tế bào có nhân điển hình. Theo một số phương án, tế bào này là tế bào động vật có vú. Các kiểu tế bào ví dụ được mô tả trong đây.

Các khía cạnh khác nữa của sáng chế đề cập đến phương pháp tạo ra hợp chất mô tả trong đây hoặc polypeptit mô tả trong đây (ví dụ, polypeptit thứ nhất hoặc polypeptit thứ hai), phương pháp này bao gồm việc thu lấy tế bào mô tả trong đây và biểu hiện axit nucleic mô tả trong đây trong tế bào này. Theo một số phương án, phương pháp này còn bao gồm bước phân tách và tinh chế hợp chất mô tả trong đây hoặc polypeptit mô tả trong đây.

Phương pháp điều trị và dược phẩm để sử dụng làm thuốc

Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị và dược phẩm để sử dụng làm thuốc. Ví dụ không giới hạn của hợp chất để sử dụng trong các phương pháp và dược phẩm này là các hợp chất bao gồm:

(i) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; hoặc

(ii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; hoặc

(iii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:9 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:10; hoặc

(iv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:11 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:12; hoặc

(v) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:13 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:14; hoặc

(vi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; hoặc

(vii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:17 và

polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:18; hoặc

(viii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:19 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:20; hoặc

(ix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:21 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:22; hoặc

(x) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24; hoặc

(xi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:25 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:26; or

(xii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:27 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:28; hoặc

(xiii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:29 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30; hoặc

(xiv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:32; hoặc

(xv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:33 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:34; hoặc

(xvi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:35 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:36; hoặc

(xvii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:37 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:38; hoặc

(xviii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:39 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:40; hoặc

(xix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:41 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:42; hoặc

(xx) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:43 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:44; hoặc

(xxi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:45 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:46; hoặc

(xxii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:47 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:48; hoặc

(xxiii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:49 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:50; hoặc

(xxiv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:51 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:52; hoặc

(xxv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:53 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:54; hoặc

(xxvi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:55 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:56; hoặc

(xxvii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:57 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:58; hoặc

(xxviii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:59 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:60; hoặc

(xxix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:61 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:62; hoặc

(xxx) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:63 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:64; hoặc

(xxxi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:65 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:66; hoặc

(xxxii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:67 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:68.

Theo một số phương án, phương pháp điều trị hoặc việc sử dụng là phương pháp điều trị bệnh tự nhiễm hoặc bệnh viêm hoặc việc sử dụng trong phương pháp này. Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm việc sử dụng hợp chất mô tả trong đây hoặc dược phẩm chứa hợp chất này cho đối tượng, ví dụ, đối tượng đang

mắc hoặc có nguy cơ mắc bệnh tự nhiễm hoặc bệnh viêm.

Đối tượng cần được điều trị bằng phương pháp mô tả trong đây có thể là động vật có vú, tốt hơn nữa là người. Động vật có vú bao gồm, nhưng không giới hạn ở, động vật nuôi trang trại, động vật nuôi mục đích thể thao, thú nuôi, động vật linh trưởng, ngựa, chó, mèo, chuột nhắt và chuột cống. Đối tượng là người cần được điều trị có thể là đối tượng người đang mắc, có nguy cơ mắc, hoặc nghi ngờ là mắc bệnh. Đối tượng mắc bệnh có thể được xác định bằng cách thăm khám bệnh thông thường, ví dụ, thăm khám lâm sàng, kiểm tra mẫu phòng thí nghiệm, kiểm tra chức năng cơ quan, chụp CT, hoặc siêu âm. Đối tượng nghi ngờ là mắc bệnh bất kỳ có thể thể hiện một hoặc nhiều triệu chứng bệnh. Dấu hiệu và triệu chứng của bệnh, ví dụ, bệnh tự miễn và bệnh viêm, đã được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Đối tượng có nguy cơ mắc bệnh này có thể là đối tượng có một hoặc nhiều yếu tố nguy cơ của bệnh này.

Ví dụ không giới hạn của bệnh tự miễn bao gồm bệnh viêm thận luput (LN) (luput ban đỏ toàn thân (SLE) có tổn thương thận), luput ban đỏ toàn thân (SLE), hội chứng Sjogren nguyên phát (pSS), bệnh Sjogren, bệnh mảnh ghép chống thể chủ (GVHD) (ví dụ, bệnh mảnh ghép chống thể chủ mãn tính (cGVHD)), xơ cứng toàn thân (SSc), viêm mạch liên quan đến ANCA (Anti-Neutrophil Cytoplasmic Autoantibody (ANCA)-associated vasculitis - AAV), viêm khớp dạng thấp, bệnh vảy nến, đái tháo đường typ 1, luput ban đỏ toàn thân, phản ứng với cơ quan ghép, bệnh tuyến giáp tự miễn (bệnh Hashimoto), bệnh sacoit, bệnh cứng bì, viêm mạch u hạt, bệnh Crohn, viêm ruột kết mạn loét, bệnh Sjogren, viêm đốt sống dạng thấp, viêm khớp vảy nến, viêm đa cơ và viêm da cơ, viêm nút quanh động mạch, bệnh phồng da do miễn dịch, hội chứng Behcet, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh Goodpasture hoặc viêm thận tiểu cầu do miễn dịch.

Ví dụ không giới hạn về bệnh viêm bao gồm viêm khớp dạng thấp, luput ban đỏ toàn thân, rụng tóc từng vùng, viêm cột sống dính khớp, hội chứng kháng phospholipit, bệnh Addison tự miễn, bệnh thiếu máu tan huyết tự miễn, bệnh viêm gan tự miễn, bệnh tai trong tự miễn, hội chứng tăng sinh tự miễn tế bào lympho (ALPS), ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự miễn (autoimmune thrombocytopenic purpura - ATP),

bệnh Behcet, bệnh bọng nước dạng pemphigut, bệnh cơ tim, bệnh viêm da-tiêu chảy mỡ, hội chứng suy giảm miễn dịch do hội chứng mệt mỏi kinh nhiên (chronic fatigue syndrome immune deficiency syndrome - CFIDS), bệnh viêm đa dây thần kinh hủy myelin mạn tính, pemphigut có sẹo, bệnh do ngưng kết tố lạnh, hội chứng Crest, bệnh Crohn, bệnh Dego, bệnh viêm bì cơ, bệnh viêm da cơ ở trẻ em, luput dạng đĩa, bệnh croglobulin huyết dạng hỗn hợp vô căn, bệnh đau xơ cơ - viêm xơ cơ, bệnh Grave, hội chứng Guillain-Barre, viêm tuyến giáp Hashimoto, xơ phổi vô căn, xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn (idiopathic thrombocytopenia purpura - ITP), bệnh thận Iga, bệnh tiểu đường phụ thuộc insulin (Typ I), bệnh viêm khớp ở trẻ em, bệnh Meniere, bệnh mô liên kết tổng hợp, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh nhược cơ năng, pemphigut thông thường, thiếu máu ác tính, viêm nút quanh động mạch, bệnh viêm đa sụn, hội chứng đa tuyến, đau cơ dạng thấp, viêm đa cơ và viêm da cơ, vô gamma globulin huyết nguyên phát, xơ gan mật nguyên phát, bệnh vảy nến, hiện tượng Raynaud, hiện tượng Reiter, bệnh thấp khớp cấp, bệnh sacoit, bệnh cứng bì, hội chứng Sjogren, hội chứng người cứng đơ, bệnh viêm động mạch Takayasu, viêm động mạch thái dương/viêm động mạch tế bào khổng lồ, viêm ruột kết mạn loét, viêm màng mạch não, viêm mạch, lang ben, và bệnh u hạt Wegener. Theo một số phương án, bệnh viêm hoặc bệnh tự miễn là bệnh Crohn, bệnh viêm đốt sống dạng thấp, hoặc bệnh viêm khớp vảy nến.

Để thực hành phương pháp bộc lộ trong đây, lượng có hiệu quả của hợp chất hoặc dược phẩm mô tả trong đây có thể được sử dụng cho đối tượng (ví dụ, người) cần được điều trị. Các hệ phân phối khác nhau đã biết và có thể được dùng để sử dụng hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế. Các phương pháp sử dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, trong da, trong cơ, trong màng bụng, trong tĩnh mạch, dưới da, trong mũi, trên màng cứng, và đường miệng. Các hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế có thể được sử dụng, ví dụ bằng cách truyền, tiêm liều lớn hoặc tiêm, và có thể được sử dụng cùng với chất có tác dụng sinh học khác như chất kháng-viêm. Việc sử dụng có thể là toàn thân hoặc tại chỗ. Theo các phương án được ưu tiên, việc sử dụng là tiêm dưới da. Dược phẩm để tiêm như vậy có thể được pha chế trong, ví dụ, bơm tiêm đóng sẵn thuốc có thể được sử dụng cách tuần dùng một lần.

"Lượng có hiệu quả" như sử dụng trong đây để chỉ lượng của mỗi hợp chất cần phải có để mang lại hiệu quả điều trị trên đối tượng, hoặc đơn độc hoặc kết hợp với

một hoặc nhiều hợp chất khác. Lượng có hiệu quả thay đổi, theo nhận biết của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, phụ thuộc vào tình trạng bệnh cụ thể được điều trị, mức độ nặng của tình trạng bệnh, các thông số của từng đối tượng bao gồm tuổi, tình trạng thể chất, kích thước, giới tính và trọng lượng, thời gian điều trị, bản chất của liệu pháp điều trị song song (nếu có), đường dùng cụ thể và các yếu tố tương tự trong hiểu biết và kinh nghiệm chuyên môn của nhân viên y tế. Các yếu tố này là đã được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và có thể được xác định mà không cần các thử nghiệm thông thường. Thường ưu tiên là liều tối đa của các thành phần riêng biệt hoặc hỗn hợp của chúng sử dụng, là, liều có hiệu lực cao nhất theo chẩn đoán y khoa. Tuy nhiên người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng, đối tượng có thể chỉ muốn liều thấp hơn hoặc liều có thể dung nạp vì lý do y tế, lý do tâm lý hoặc thực tế vì bất kỳ lý do khác.

Các yếu tố cân nhắc theo kinh nghiệm, như thời gian bán thải, thường sẽ góp phần vào việc xác định liều. Ví dụ, các hợp chất tương thích với hệ miễn dịch của người, như hợp chất bao gồm các vùng từ kháng thể được biến đổi cho phù hợp với người hoặc kháng thể của người hoàn toàn, có thể được sử dụng để kéo dài thời gian bán thải của hợp chất này và để ngăn cản hợp chất này bị tấn công bởi hệ miễn dịch của thể chủ. Tần suất sử dụng có thể được xác định và điều chỉnh theo thời gian điều trị, và thường là, không cần thiết, dựa trên mục đích điều trị và/hoặc ức chế và/hoặc làm thuyên giảm và/hoặc kìm hãm bệnh. Mặt khác, chế phẩm giải phóng liên tục kéo dài chứa hợp chất có thể là thích hợp. Các chế phẩm và thiết bị khác nhau để đạt được sự giải phóng kéo dài đã biết rõ trong lĩnh vực này.

Theo một số phương án, liều dùng là hàng ngày, cách ngày, một lần mỗi 3 ngày, một lần mỗi 4 ngày, một lần mỗi 5 ngày, hoặc một lần mỗi 6 ngày. Theo một số phương án, tần suất dùng thuốc là một lần mỗi tuần, mỗi 2 tuần, mỗi 4 tuần, mỗi 5 tuần, mỗi 6 tuần, mỗi 7 tuần, mỗi 8 tuần, mỗi 9 tuần, hoặc mỗi 10 tuần; hoặc một lần mỗi tháng, mỗi 2 tháng, hoặc mỗi 3 tháng, hoặc lâu hơn. Tiến trình của liệu pháp điều trị này được kiểm tra dễ dàng bằng các kỹ thuật và thử nghiệm thông thường. Phác đồ dùng thuốc (bao gồm hợp chất được sử dụng) có thể thay đổi theo thời gian.

Theo một số phương án, đối với đối tượng trưởng thành có trọng lượng bình

thường, có thể sử dụng liều nằm trong khoảng từ 0,01 đến 1000mg/kg. Theo một số phương án, liều là nằm trong khoảng từ 1 đến 200mg. Phác đồ liều cụ thể, tức là, liều, thời gian và việc dùng nhắc lại, sẽ phụ thuộc vào đối tượng cụ thể và tiền sử bệnh của đối tượng, cũng như các đặc điểm của hợp chất (như thời gian bán thải của hợp chất này, và các yếu tốc cân nhắc khác đã biết trong lĩnh vực này).

Với mục đích của sáng chế, liều dùng thích hợp của hợp chất như mô tả trong đây sẽ phụ thuộc vào hợp chất cụ thể (hoặc chế phẩm của nó) được sử dụng, dược phẩm và đường dùng, kiểu và mức độ nặng của bệnh, liệu hợp chất được sử dụng với mục đích phòng bệnh hay điều trị bệnh, phương pháp điều trị trước đây, tiền sử lâm sàng của đối tượng và đáp ứng với chất đối kháng, và cân nhắc của bác sĩ điều trị. Đặc trưng, bác sĩ lâm sàng sẽ sử dụng một hợp chất cho đến khi đạt được liều mang lại kết quả mong muốn. Việc sử dụng một hoặc nhiều hợp chất có thể là liên tục hoặc gián đoạn, ví dụ, phụ thuộc vào tình trạng sinh lý của người dùng thuốc, việc mục đích sử dụng là phòng bệnh hay chữa bệnh, và các yếu tố khác đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Việc sử dụng một hợp chất có thể chủ yếu là liên tục trong một khoảng thời gian đã chọn hoặc có thể có nhiều khoảng giãn liều, ví dụ, hoặc là trước, trong, hoặc sau khi phát triển bệnh.

Như sử dụng trong đây, thuật ngữ "điều trị" để chỉ việc áp dụng hoặc sử dụng hợp chất hoặc dược phẩm chứa hợp chất cho đối tượng, có mắc bệnh, triệu chứng bệnh, hoặc có xu hướng mắc bệnh, với mục đích chữa trị, làm lành, làm giảm nhẹ, làm thuyên giảm, điều chỉnh, cứu chữa, làm tốt hơn, cải thiện, hoặc tác động lên bệnh, triệu chứng bệnh, hoặc xu hướng mắc bệnh.

Làm giảm nhẹ bệnh bao gồm việc làm chậm sự tăng nặng hoặc phát triển của bệnh, hoặc làm giảm nhẹ mức độ nặng của bệnh. Làm giảm nhẹ bệnh thực sự không đòi hỏi kết quả chữa bệnh. Như sử dụng trong đây, "làm chậm" sự tăng nặng của bệnh có nghĩa là trì hoãn, gây cản trở, làm chậm, kìm hãm, ổn định, và/hoặc làm dừng sự phát triển của bệnh. Việc làm chậm này có thể có thời gian khác nhau, phụ thuộc vào tiền sử của bệnh và/hoặc cá thể được điều trị. Phương pháp "làm chậm" hoặc làm giảm nhẹ sự tăng nặng của bệnh, hoặc làm chậm sự sinh bệnh, là phương pháp làm giảm khả năng tăng nặng một hoặc nhiều triệu chứng bệnh trong một khung thời gian đưa ra

và/hoặc làm giảm mức độ của triệu chứng này trong một khung thời gian đưa ra, khi so với việc không sử dụng phương pháp này. Việc so sánh này đặc trưng dựa trên các nghiên cứu lâm sàng, sử dụng một số đối tượng đủ để mang lại kết quả có ý nghĩa thống kê.

"Sự tăng nặng" hoặc "phát triển" của một bệnh có nghĩa là sự biểu hiện mới và/hoặc sự phát triển mới sau đó của bệnh này. Sự tăng nặng bệnh có thể phát hiện được và đánh giá bằng các kỹ thuật lâm sàng chuẩn đã biết trong lĩnh vực này. Tuy nhiên, sự tăng nặng cũng để chỉ sự phát triển có thể không phát hiện được. Với mục đích của bản mô tả này, sự tăng nặng hoặc phát triển bệnh để chỉ đến quá trình sinh học của triệu chứng. "Sự tăng nặng" bao gồm biến cố, tái phát, và phát bệnh. Như sử dụng trong đây, "phát bệnh" hoặc "biến cố" của một bệnh bao gồm khởi phát và/hoặc tái phát.

Theo một số phương án, hợp chất mô tả trong đây được sử dụng cho đối tượng cần được điều trị với lượng đủ để ức chế hoạt tính của một hoặc cả hai BAFF hoặc IL23A ít nhất là 20% (ví dụ, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% hoặc cao hơn) *in vivo* hoặc *in vitro*. Phương pháp xác định khả năng ức chế của một hợp chất đã biết trong lĩnh vực này. Thử nghiệm ức chế BAFF và IL23A ví dụ được nêu trong Ví dụ thực hiện sáng chế.

Các phương pháp thông thường, đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực dược phẩm, có thể được dùng để sử dụng hợp chất hoặc dược phẩm cho đối tượng, phụ thuộc vào kiểu bệnh cần điều trị hoặc vị trí của bệnh. Dược phẩm này cũng có thể được sử dụng qua các đường dùng thông thường khác, ví dụ, sử dụng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, bằng thuốc phun xông hít, tại chỗ, tại trực tràng, tại mũi, trong khoang miệng, tại âm đạo hoặc qua nguồn thuốc cấy. Thuật ngữ "ngoài đường tiêu hóa" như sử dụng trong đây bao gồm dưới da, trong da, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong khớp, trong động mạch, trong bao hoạt dịch, trong xương ức, trong vỏ não, trong vị trí thương tổn, và kỹ thuật tiêm hoặc truyền trong sọ. Ngoài ra, nó có thể được sử dụng cho đối tượng qua đường dùng viên cấy giải phóng chậm như sử dụng 1-, 3-, hoặc 6-tháng viên cấy giải phóng chậm hoặc vật liệu và phương pháp phân hủy sinh học được.

Dược phẩm

Các khía cạnh khác nữa của sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất mô tả trong đây. Dược phẩm chứa hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế (ví dụ, hợp chất đặc hiệu với cả BAFF và IL23A) có thể được sử dụng cho đối tượng có mắc hoặc có nguy cơ mắc bệnh tự nhiễm hoặc bệnh viêm. Đối tượng kỹ thuật của sáng chế còn đề xuất việc sử dụng hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế trong quy trình sản xuất thuốc để điều trị bệnh tự nhiễm hoặc bệnh viêm. Các hợp chất này có thể được sử dụng đơn độc hoặc kết hợp với chế phẩm khác để phòng hoặc điều trị bệnh tự nhiễm hoặc bệnh viêm. Ví dụ không giới hạn về hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế để sử dụng trong các dược phẩm này là các hợp chất bao gồm:

(i) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; hoặc

(ii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; hoặc

(iii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:9 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:10; hoặc

(iv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:11 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:12; hoặc

(v) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:13 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:14; hoặc

(vi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; hoặc

(vii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:17 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:18; hoặc

(viii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:19 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:20; hoặc

(ix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:21 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:22; hoặc

(x) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:23 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:24; hoặc

(xi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:25 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:26; hoặc

(xii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:27 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:28; hoặc

(xiii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:29 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:30; hoặc

(xiv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:31 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:32; hoặc

(xv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:33 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:34; hoặc

(xvi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:35 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:36; hoặc

(xvii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:37 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:38; hoặc

(xviii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:39 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:40; hoặc

(xix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:41 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:42; hoặc

(xx) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:43 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:44; hoặc

(xxi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:45 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:46; hoặc

(xxii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:47 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:48; hoặc

(xxiii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:49 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:50; hoặc

(xxiv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:51 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:52; hoặc

(xxv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:53 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:54; hoặc

(xxvi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:55 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:56; hoặc

(xxvii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:57 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:58; hoặc

(xxviii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:59 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:60; hoặc

(xxix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:61 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:62; hoặc

(xxx) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:63 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:64; hoặc

(xxxi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:65 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:66; hoặc

(xxxii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:67 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:68.

Như sử dụng trong đây, thuật ngữ "dược phẩm" để chỉ một chế phẩm chứa hợp chất mô tả trong đây kết hợp với chất mang dược dụng. Dược phẩm còn có thể bao gồm chất hỗ trợ (ví dụ, để phân phối đặc hiệu, tăng thời gian bán thải, hoặc hợp chất điều trị khác).

Như sử dụng trong đây, thuật ngữ "chất mang dược dụng" có nghĩa là nguyên liệu dược dụng, chế phẩm hoặc tá dược lỏng, như chất độn lỏng hoặc rắn, chất pha loãng, tá dược, chất trợ giúp sản xuất (ví dụ, chất làm trơn, talc magie, canxi hoặc kẽm stearat, hoặc axit stearic), hoặc nguyên liêu dung môi bao, tham gia vào việc mang hoặc vận chuyển hợp chất này từ một vị trí (ví dụ, vị trí phân phối) của cơ thể, đến vị trí khác (ví dụ, cơ quan, mô hoặc một phần của cơ thể). Chất mang dược dụng là "chấp

nhận được" theo ý nghĩa tương thích với các thành phần khác của công thức và không gây tổn thương cho mô của đối tượng này (ví dụ, tương thích về sinh lý, vô khuẩn, độ pH sinh lý, v.v.). Một số ví dụ về nguyên liệu có thể sử dụng làm chất mang dược dụng bao gồm: (1) đường, như lactoza, glucoza và sucroza; (2) tinh bột, như tinh bột ngô và tinh bột khoai tây; (3) xenluloza, và dẫn xuất của nó, như natri carboxymetyl xenluloza, metylxenluloza, etyl xenluloza, xenluloza vi tinh thể và xenluloza axetat; (4) tragacant bột; (5) mạch nha; (6) gelatin; (7) chất gây trượt, như magie stearat, natri lauryl sulfat và talc; (8) tá dược, như bơ ca cao và sáp thuốc đặt; (9) dầu, như dầu lạc, dầu hạt bông, dầu rum, dầu vừng, dầu ôliu, dầu ngô và dầu đậu nành; (10) glycol, như propylen glycol; (11) rượu polyhydric, như glyxerin, sorbitol, manitol và polyetylen glycol (PEG); (12) este, như etyl oleat và etyl laurat; (13) aga; (14) chất đệm, như magie hydroxit và nhôm hydroxit; (15) axit alginic; (16) nước không có chí nhiệt tố; (17) nước muối đẳng trương; (18) dung dịch Ringer; (19) rượu etylic; (20) dung dịch đệm pH; (21) polyeste, polycarbonat và/hoặc polyanhydrit; (22) chất độn, như polypeptit và axit amin (23) thành phần của huyết thanh, như albumin huyết thanh, HDL và LDL; (22) rượu C2-C12, như etanol; và (23) chất tương thích không độc khác sử dụng trong dược phẩm. Chất tạo ẩm, chất tạo màu, chất giải phóng, chất bao, chất làm ngọt, chất điều hương, chất tạo mùi, chất bảo quản và chất chống oxy hóa cũng có thể có trong công thức. Thuật ngữ như "tá dược", "chất mang", "chất mang dược dụng" hoặc tương tự được sử dụng thay thế cho nhau ở đây.

Theo một số phương án, hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế trong chế phẩm được sử dụng bằng cách tiêm, bằng ống thông, bằng thuốc đạn, hoặc bằng thuốc cấy, thuốc cấy có nguyên liệu dạng có lỗ, không có lỗ, hoặc kiểu gelatin, bao gồm một màng, như màng silicon dẻo, hoặc sợi. Đặc trưng, khi sử dụng chế phẩm này, các nguyên liệu mà hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế không hấp thụ vào sẽ được sử dụng.

Theo các phương án khác, hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế được phân phối trong hệ giải phóng kiểm soát. Theo một phương án, một bơm có thể được sử dụng (xem, ví dụ, Langer, 1990, Science 249:1527-1533; Sefton, 1989, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201; Buchwald và cộng sự, 1980, Surgery 88:507; Saudek và cộng sự, 1989, N. Engl. J. Med. 321:574). Theo phương án khác, nguyên liệu polyme

có thể được sử dụng. (Xem, ví dụ, Medical Applications of Controlled Release (Langer and Wise eds., CRC Press, Boca Raton, Fla., 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen và Ball eds., Wiley, New York, 1984); Ranger và Peppas, 1983, Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61. Cũng xem Levy và cộng sự, 1985, Science 228:190; During và cộng sự, 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard và cộng sự, 1989, J. Neurosurg. 71:105.) Các hệ giải phóng kiểm soát khác được bàn luận, ví dụ, trong Langer, nêu trên.

Hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế có thể được sử dụng ở dạng dược phẩm chứa lượng có hiệu quả điều trị của chất gắn kết và một hoặc nhiều thành phần dược dụng.

Theo phương án đặc trưng, dược phẩm được bào chế phù hợp với các quy trình thông thường ở dạng dược phẩm thích hợp với đường dùng trong tĩnh mạch hoặc dưới da cho đối tượng, ví dụ, người. Đặc trưng, chế phẩm để sử dụng bằng đường tiêm là các dung dịch trong dung dịch đệm đẳng trương vô khuẩn. Khi cần thiết, dược phẩm còn có thể chứa chất hòa tan và thuốc gây mê tại chỗ như lignocain để giảm đau ở vị trí tiêm. Thông thường, các thành phần được cung cấp hoặc riêng biệt hoặc phối hợp với nhau trong dạng liều đơn vị, ví dụ, ở dạng bột khô làm đông khô hoặc dạng cô không chứa nước trong vật chứa kín như ống tiêm hoặc túi có nêu rõ lượng của tác nhân hoạt động. Khi dược phẩm được sử dụng bằng cách truyền, nó có thể được phân phối cùng chai thuốc truyền chứa nước hoặc nước muối vô khuẩn tiêu chuẩn dược phẩm. Khi dược phẩm được sử dụng bằng đường tiêm, ống tiêm chứa nước vô khuẩn để tiêm hoặc nước muối có thể được cung cấp sao cho các thành phần có thể được trộn trước khi sử dụng.

Dược phẩm dành cho đường dùng toàn thân có thể là chất lỏng, ví dụ, nước muối vô khuẩn, dung dịch Ringer hoặc Hank bổ sung lactat. Ngoài ra, dược phẩm có thể ở dạng rắn và được hòa tan lại hoặc tạo hỗn dịch ngay trước khi sử dụng. Các dạng đông khô cũng được dự tính.

Dược phẩm có thể được chứa trong hạt hoặc nang lipit, như liposom hoặc vi tinh thể, cũng thích hợp cho đường dùng ngoài đường tiêu hóa. Các hạt có thể có cấu trúc bất kỳ, như một lớp hoặc nhiều lớp, miễn là các chế phẩm được chứa trong đó.

Hợp chất có thể được bẫy vào trong 'hạt plasmit-lipit ổn định' (stabilized plasmid-lipid particle - SPLP) chứa lipit được làm dung hợp dioleoylphosphatidyletanolamin (DOPE), mức thấp (5-10 mol%) lipit cation, và được ổn định bằng màng polyetylenglycol (PEG) (Zhang Y. P. và cộng sự, Gene Ther. 1999, 6:1438-47). Lipit điện tích dương như N-[1-(2,3-dioleoyloxi)propyl]-N,N,N-trimetyl-amoniummetylsulfat, hoặc "DOTAP," đặc biệt được ưu tiên cho hạt và nang này. Việc điều chế các hạt lipit này đã được biết rõ. Xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,880,635; 4,906,477; 4,911,928; 4,917,951; 4,920,016; và 4,921,757.

Dược phẩm trong bản mô tả này có thể được sử dụng hoặc đóng gói ở dạng liều đơn vị, ví dụ. Thuật ngữ "liều đơn vị" khi sử dụng đối với dược phẩm theo sáng chế là để chỉ đơn vị riêng biệt về mặt vật lý thích hợp là liều đơn vị dành cho đối tượng sử dụng, mỗi đơn vị chứa lượng đã xác định nguyên liệu hoạt động được tính toán để tạo ra hiệu quả điều trị mong muốn cùng với chất pha loãng cần có; tức là, chất mang, hoặc tá dược lỏng.

Theo một số phương án, hợp chất mô tả trong đây có thể được liên hợp với gốc có tác dụng điều trị, ví dụ, chất kháng-viêm. Các kỹ thuật để liên hợp các gốc có tác dụng điều trị này với polypeptit, bao gồm ví dụ, vùng chức năng Fc, đã được biết rõ; xem, ví dụ, Amon và cộng sự, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", trong Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Reisfeld và cộng sự (eds.), 1985, trang 243-56, Alan R. Liss, Inc.); Hellstrom và cộng sự, "Antibodies For Drug Delivery", trong Controlled Drug Delivery (xuất bản lần thứ 2), Robinson và cộng sự (eds.), 1987, trang 623-53, Marcel Dekker, Inc.); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", trong Monoclonal Antibodies '84: Biological and Clinical Applications, Pinchera và cộng sự (eds.), 1985, trang 475-506); "Analysis, Results, and Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", trong Monoclonal Antibodies For Cancer Detection and Therapy, Baldwin và cộng sự (eds.), 1985, pp. 303-16, Academic Press; và Thorpe và cộng sự (1982) "The Preparation and Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates," Immunol. Rev., 62:119-158.

Hơn nữa, dược phẩm này có thể được cung cấp ở dạng kít dược phẩm bao gồm (a) vật chứa chứa hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế ở dạng đông khô và (b) vật chứa thứ hai chứa chất pha loãng dược dụng (ví dụ, nước tinh khiết) để tiêm. Chất pha loãng dược dụng có thể được sử dụng để hoàn nguyên hoặc pha loãng hợp chất đông khô thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế. Tùy chọn, cùng với (các) vật chứa này có thể là tờ thông tin thuốc ở dạng được quy định bởi cơ quan nhà nước điều hành việc sản xuất, sử dụng hoặc kinh doanh dược phẩm hoặc sản phẩm sinh học, tờ thông tin thuốc này thể hiện sự cho phép của của tổ chức sản xuất, sử dụng hoặc kinh doanh để sử dụng cho người.

Theo khía cạnh khác, cũng bao gồm một vật phẩm chứa các nguyên liệu hữu dụng để điều trị bệnh được mô tả ở trên. Theo một số phương án, vật phẩm bao gồm vật chứa và nhãn thuốc. Các vật chứa thích hợp bao gồm, ví dụ, chai, ống thủy tinh, ống tiêm, và ống thử nghiệm. Các vật chứa có thể được làm từ nhiều nguyên liệu như thủy tinh hoặc nhựa. Theo một số phương án, vật chứa giữ chế phẩm có hiệu quả để điều trị bệnh mô tả trong đây và có thể có lỗ nạp vô khuẩn. Ví dụ, vật chứa có thể là túi dung dịch truyền trong tĩnh mạch hoặc ống thủy tinh có nút có thể chọc qua bởi kim tiêm dưới da. Tác nhân hoạt động trong chế phẩm là hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế. Theo một số phương án, nhãn thuốc trên hoặc đi kèm với vật chứa chỉ định rằng chế phẩm được sử dụng để điều trị bệnh được chọn. Vật phẩm này còn có thể bao gồm vật chứa thứ hai chứa dung dịch đệm dược dụng, như nước muối đệm phosphat, dung dịch Ringer, hoặc dung dịch dextroza. Nó còn có thể bao gồm các nguyên liệu khác theo quan điểm thương mại và người dùng, bao gồm chất đệm khác, chất pha loãng, vật lọc, kim tiêm, ống tiêm, và hướng dẫn sử dụng có các hướng dẫn để sử dụng.

Không cần phân tích chi tiết thêm, tin rằng người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể, dựa trên phần mô tả trên, ứng dụng sáng chế ở phạm vi rộng nhất. Các phương án cụ thể sau đây, do đó, được hiểu là chỉ nhằm minh họa, và không giới hạn phần còn lại của sáng chế theo cách bất kỳ. Tất cả các tài liệu công bố nêu trong đây được đưa vào đây bằng cách viện dẫn với mục đích hoặc đối tượng được đề cập trong đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Xây dựng cấu trúc hợp chất ví dụ chọn đích IL23A và BAFF

Các hợp chất thuộc đối tượng kỹ thuật của sáng chế được tạo ra bằng phương pháp tái tổ hợp đã biết trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, Công bố PCT số WO 2006/113665, WO 2008/157379, và WO 2010/080538, nội dung của tất cả các công bố này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Bảng 2A nêu các hợp chất ví dụ gắn kết với cả IL23A và BAFF sử dụng trong Ví dụ thực hiện sáng chế sau đây. Ngắn gọn, các plasmit mã hóa polypeptit thứ nhất và thứ hai của mỗi hợp chất được được chuyển nạp cùng nhau vào trong tế bào CHO-S bằng thuốc thử FreeStyle MAX (CHO). Các tế bào này được nuôi cấy trong 13-14 ngày và hợp chất tạo ra bởi các tế bào này được tinh chế bằng phép sắc ký Protein-A. Các hợp chất được tinh chế tiếp bằng sắc ký loại trừ theo kích thước.

Bảng 2A. Hợp chất gắn kết IL23A và BAFF ví dụ

Tên hợp chất	**vL chuỗi lớn**	**vH chuỗi lớn**	**vL chuỗi nhỏ**	**vH chuỗi nhỏ**	**Kiểu cầu nối thứ ba và/hoặc thứ tư**	**Isotyp vùng chức năng cố định**	**SEQ ID NO: (polypeptit thứ nhất/ thứ hai)**
Hợp chất E	BAFF(1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	LGGGSG (SEQ ID NO:70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	5/6
Hợp chất V	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF(1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO:70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	7/8

Hợp chất U	BAFF(1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG1 KO-YTE (SEQ ID NO:129)	9/10
Hợp chất T	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF(1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG1 KO-YTE (SEQ ID NO:129)	11/12
Hợp chất X	BAFF(1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	13/14
Hợp chất F	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF(1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	15/16
Hợp chất W	BAFF(1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	17/18

Hợp chất S	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF(1) VL (SEQ ID NO:2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	19/20
Hợp chất G	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	21/22
Hợp chất AA	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG1 KO-YTE (SEQ ID NO:129)	23/24
Hợp chất I	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	25/26

Hợp chất AB	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG1 KO-YTE (SEQ ID NO:129)	27/28
Hợp chất K	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	29/30
Hợp chất AC	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG1 KO-YTE (SEQ ID NO:129)	31/32
Hợp chất M	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	33/34

Hợp chất AD	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	35/36
Hợp chất C	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	37/38
Hợp chất AE	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:129)	39/40
Hợp chất D	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO: 74)	41/42

Hợp chất AF	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	43/44
Hợp chất A	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	45/46
Hợp chất AG	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:129)	47/48
Hợp chất B	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	49/50

Hợp chất AH	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	E(C-1) (SEQ ID NO:82), K-coil(C-1) (SEQ ID NO:83)	Fc-IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO:127)	51/52
Hợp chất H	BAFF (4) VL (SEQ ID NO:85	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	53/54
Hợp chất J	BAFF (4) VL (SEQ ID NO: 85)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (4) VH (SEQ ID NO:84)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	55/56
Hợp chất L	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO-YTE (SEQ ID NO:128)	57/58
Hợp chất N	BAFF (5) VL (SEQ ID NO:87)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (5) VH (SEQ ID NO:86)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4-Pro-YTE (SEQ ID NO:74)	59/60

Hợp chất O	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO -YTE (SEQ ID NO:128)	61/62
Hợp chất P	BAFF (6) VL (SEQ ID NO:89)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (6) VH (SEQ ID NO:88)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4-Pr o-YTE (SEQ ID NO:74)	63/64
Hợp chất Q	BAFF 7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG1KO -YTE (SEQ ID NO:128)	65/66
Hợp chất R	BAFF (7) VL (SEQ ID NO:91)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)	BAFF (7) VH (SEQ ID NO:90)	LGGGSG (SEQ ID NO: 70)	IgG4-Pr o-YTE (SEQ ID NO:74)	67/68

VL = vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ, VH = vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng, mỗi chuỗi bao gồm cầu nối GGGSGGG (SEQ ID NO:69) giữa VL và VH.

Các kháng thể đối chứng cũng được sử dụng để so sánh. Kháng thể đối chứng là các kháng thể đơn dòng chọn đích hoặc BAFF hoặc IL23.

Bảng 2B. Kháng thể đối chứng/chất đối kháng

Hợp chất đối chứng	**Trình tự**	
Kháng thể đối chứng 1 (kháng thể đơn dòng kháng-BAFF) (BAFF (1))	BAFF(1) VH (SEQ ID NO:1)	BAFF(1) VL (SEQ ID NO:2)
Chất đối kháng protein dung hợp đối chứng 2 (chất đối kháng BAFF chọn lọc không phải là kháng thể) (BAFF (2))	BAFF(2) (SEQ ID NO:131)	
Kháng thể đối chứng 3 (kháng thể đơn dòng kháng-BAFF) (BAFF (3))	BAFF(3) VH (SEQ ID NO:132)	BAFF(3) VL (SEQ ID NO:133)
Kháng thể đối chứng 4 (kháng thể đơn dòng kháng-IL-23A) (IL-23A (1))	IL23A(1) VH (SEQ ID NO:3)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO:4)

Ví dụ 2: Độ ổn định nhiệt của các hợp chất

Phương pháp

Sơ đồ trải nhiệt và sự kết tụ của dung dịch 2mg/ml chứa hợp chất trong đệm phosphat được kiểm tra từ 20°C đến 110°C với tốc độ quét là 60°C/giờ qua DSC mao dẫn tự động (MicroCal, LLC, Boston). Thực hiện hai lần quét với đệm tương ứng để xác lập lịch sử nhiệt của thiết bị và để thu được độ chuẩn của thiết bị với mỗi mẫu, với giá trị trung bình của các lần quét này trừ đi giá trị nhiệt biểu protein sau đó để thu được nhiệt dung biểu kiến. Các lần quét đã chuẩn hóa sau đó được phân tích bằng chương trình Origin 7.0. Độ chuẩn trước khi chuyển pha được trừ với mỗi giá trị nhiệt biểu nhiệt dung thu được, thu được nhiệt dung dư (Cp,ex) có được là một hàm của nhiệt độ. Giá trị ghi chép được của nhiệt độ chuyển tiếp (Tm) thể hiện các vị trí của đỉnh cực đại được xác định bằng cách kiểm tra nhiệt biểu thực nghiệm bằng mắt thường.

Kết quả

Các kết quả được trình bày trong Bảng 3. Số liệu này thể hiện rằng các hợp chất

ví dụ chọn đích IL23A và BAFF có khoảng nhiệt độ chuyển tiếp của đỉnh thứ nhất (T_{m1}), nằm trong khoảng từ 51,59 đến 71,25°C. Các kết quả này gây ngạc nhiên do tất cả các hợp chất ví dụ có cùng cấu trúc tổng thể và chứa trình tự gen VH và VL giống nhau chọn đích IL-23A. Hợp chất có nhiệt độ chuyển tiếp cao hơn là ổn định hơn và dự đoán là có thời gian sử dụng dài.

Bảng 3. Nhiệt độ chuyển tiếp trong sơ đồ trải nhiệt của các hợp chất

Tên hợp chất	**T_{m1} (°C)**	**T_{m2} (°C)**
Hợp chất A	69,35	83,63
Hợp chất B	65,87	--
Hợp chất C	67,89	82,36
Hợp chất D	64,93	--
Hợp chất E	51,59	68,8
Hợp chất F	52,75	64,48
Hợp chất G	70,88	83,21
Hợp chất H	71,25	83,62
Hợp chất I	67,83	--
Hợp chất J	68,26	--
Hợp chất K	68,33	83,23
Hợp chất L	68,3	82,58
Hợp chất M	64,98	--
Hợp chất N	65,52	--
Hợp chất O	67,79	83,85
Hợp chất P	65,09	--
Hợp chất Q	69,19	81,9

Hợp chất R	65,97	--
Hợp chất X	52,36	64,53

Ví dụ 3. Ái lực cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) của các hợp chất ví dụ

Hợp chất thử nghiệm được phân tích bằng SPR để xác định ái lực với BAFF và IL23A.

Nguyên liệu và phương pháp:

Thử nghiệm SPR được tiến hành trên thiết bị ProteOn XPR36 (Bio Rad). Chíp GLM được xử lý trước bằng các lần bơm liên tiếp trong 60 giây SDS 0,5%, NaOH 50mM, và HCl 100mM với tốc độ dòng là 30µl/phút cả theo chiều ngang và dọc.

Chíp GLM đã được xử lý trước sau đó được hoạt hóa bằng cách bơm hỗn hợp EDC (76,7mg/ml) và sulfo-NHS (21,7mg/ml) với tỷ lệ là 1:1 trong 6 rãnh ngang. Fc gamma của IgG dê-kháng-người (GAHA) (Invitrogen) ở nồng độ 30µg/ml trong 10mM, đệm natri axetat độ pH = 5,0 được bất động đến 8.000 đơn vị cộng hưởng trên chíp GLM đã hoạt hóa trong 6 rãnh ngang. Chíp này cuối cùng được bất hoạt bằng etanolamin HCl 1M trong 6 rãnh ngang. Chíp GAHA đã phản ứng được quay sang chiều dọc để bắt giữ hợp chất thử nghiệm, trên 5 rãnh dọc và rãnh cuối cùng được sử dụng làm đối chứng cột.

Chíp bắt giữ được sau đó được quay lại theo chiều ngang để gắn kết. IL-23 của người đã liên kết (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) với 5 nồng độ, 10,0nM, 5,00nM, 2,50nM, 1,25nM và 0,625nM, được bơm theo chiều ngang lên trên bề mặt hợp chất thử nghiệm trong 10 phút ở tốc độ dòng là 40µl/phút trong đệm chạy hợp chất sau đây (Bio Rad): nước muối đệm phosphat (độ pH = 7,4), Tween 20 nồng độ 0,005%. Để phân ly trong 2 giờ. Bề mặt GAHA được phục hồi bằng cách bơm theo nhịp ngắn (18 giây) axit phosphoric 0,85% (Bio Rad) ở tốc độ dòng là 100µl/phút cả theo chiều ngang và dọc sau 10 phút kết hợp và 2 giờ phân ly. GAHA phục hồi được đã sẵn sàng cho chu kỳ gắn kết khác. Sự gắn kết của hợp chất với IL23 khỉ đuôi dài, BAFF người hoặc BAFF khỉ đuôi dài được thực hiện theo cách tương tự nhưng nồng độ chuẩn độ sự gắn kết với BAFF người hoặc BAFF khỉ đuôi dài là 6,25nM, 3,12nM,

1,56nM, 0,78nM, và 0,39nM.

Kết quả:

Các kết quả trong Bảng 4 thể hiện rằng cả hai hợp chất thử nghiệm có khả năng gắn kết BAFF và IL23 với hằng số phân ly (KD) trong khoảng picomol.

Bảng 4. Ái lực của các hợp chất gắn kết với BAFF và IL23

Tên hợp chất	**Giá trị KD với BAFF người (pM)**	**Giá trị KD với BAFF khỉ đuôi dài (pM)**	**Giá trị KD với IL23 người (pM)**	**Giá trị KD với IL23 khỉ đuôi dài (pM)**
Hợp chất A	< 15	< 15	< 15	< 15
Hợp chất B	< 15	< 15	< 15	< 15
Hợp chất C	< 15	< 15	< 15	< 15
Hợp chất D	< 15	< 15	< 15	< 15
Hợp chất E	< 15	< 15	< 15	< 15
Hợp chất F	< 15	< 15	< 15	< 15

Ví dụ 4. Sự ức chế quá trình hoạt hóa NFkB do BAFF trime của người và khỉ đuôi dài ở tế bào chỉ thị luciferaza BAFFR-CHO

Nguyên liệu/phương pháp:

Ngắn gọn, tế bào chỉ thị luciferaza BAFFR CHO NFkB của người được thu hoạch, rửa, đếm và tạo huyền phù lại ở nồng độ 1,6 X 10^6 tế bào/ml trong môi trường thử nghiệm (assay medium - AM) chứa 1% Penixillin/Streptomyxin (thể tích/thể tích) trong X-VIVO15, môi trường không có huyết thanh về mặt hóa học (Lonza). BAFF trime tái tổ hợp của người hoặc khỉ đuôi dài (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) được chuẩn bị ở một nồng độ (52pM) trong AM và được ủ trước với AM đơn độc hoặc với loạt độ chuẩn của hợp chất thử nghiệm trong 30phút ở 37°C, 5% CO2 trong thiết bị ủ được làm ẩm. Sau khi ủ trước BAFF + hợp chất thử nghiệm, 50ul (các) hỗn hợp được bổ sung vào 50 ul tế bào và đĩa thử nghiệm được ủ thêm ở 37°C (như mô tả)

trong 24 giờ. Các mẫu đối chứng được nhận hoặc AM (đối chứng không kích thích) hoặc BAFF trime tái tổ hợp được pha loãng trong AM (đối chứng kích thích). Sau 24 giờ ủ, huyền phù tế bào được xử lý với 100ul thuốc thử STEADY-Glo (Promega), theo hướng dẫn của nhà sản xuất, và thử nghiệm về mức biểu hiện luciferaza. Đơn vị huỳnh quang tương đối (Relative Luminesence Unit -RLU) thu được được vẽ đồ thị với giá trị Log10 của nồng độ cỡ nanomol của hợp chất thử nghiệm, trong đó giá trị IC_{50} & IC_{90} được tính bằng mô hình Logistic 4 thông số, hỗ trợ bởi chương trình Excel add-in Xlfit (ID Business Solutions Limited). Giá trị IC_{50} & IC_{90} của hợp chất thử nghiệm được tính như mô tả ở trên và giá trị trung bình hình học được tính trên nhiều thử nghiệm và thể hiện trong Bảng 5 và Bảng 6.

Kết quả:

Hợp chất thử nghiệm ức chế theo kiểu phụ thuộc liều lên sự hoạt hóa NFkB do BAFF trime của người và khỉ đuôi dài trong tế bào chỉ thị luciferaza BAFFR-CHO. Kết quả minh họa trong Bảng 5 và Bảng 6 chỉ ra rằng giá trị trung bình hình học IC_{50} & IC_{90} của hợp chất thử nghiệm là có thể so sánh hoặc mạnh hơn chất đối kháng BAFF đối chứng.

Bảng 5: Giá trị trung bình hình học IC_{50} và IC_{90} của mức ức chế BAFF trime của người trong tế bào chỉ thị BAFFR-CHO

Tên hợp chất	**IC_{50} (pM)**	**IC_{90} (pM)**
Hợp chất A	43	180
Hợp chất B	39	256
Hợp chất C	35	110
Hợp chất D	34	172
Hợp chất F	72	293
Hợp chất O	27	119
Hợp chất P	19	88
Hợp chất Q	26	108

Hợp chất R	30	139
Hợp chất X	106	361
Kháng thể đối chứng 1 (BAFF (1))	232	743
Chất đối kháng protein dung hợp đối chứng 2 (BAFF (2))	173	914
Kháng thể đối chứng 3 (BAFF (3))	70	417

Bảng 6: Giá trị trung bình hình học IC_{50} và IC_{90} của mức ức chế BAFF trime khỉ đuôi dài trong tế bào chỉ thị BAFFR-CHO

Tên hợp chất	**Giá trị trung bình hình học IC50 pM**	**Giá trị trung bình hình học IC90 pM**
Hợp chất A	132	191
Hợp chất B	132	295
Hợp chất D	118	248
Kháng thể đối chứng 1 (BAFF (1))	288	635
Chất đối kháng protein dung hợp đối chứng 2 (BAFF (2))	602	1089
Kháng thể đối chứng 3 (BAFF (3))	257	588

Ví dụ 5. Sự ức chế quá trình hoạt hóa NFkB do BAFF trime người trong tế bào chỉ thị luciferaza TACI-CHO

Nguyên liệu/Phương pháp:

Ngắn gọn, tế bào chỉ thị luciferaza TACI CHO NFkB của người được thu

hoạch, rửa, đếm và tạo huyền phù lại ở nồng độ 1,6 X 10^6 tế bào/ml trong môi trường thử nghiệm (AM) chứa 1% Penixillin/Streptomyxin (thể tích/thể tích) trong X-VIVO15, môi trường không có huyết thanh về mặt hóa học (Lonza). BAFF trime tái tổ hợp của người (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) được chuẩn bị ở một nồng độ (222pM) trong AM và được ủ trước với AM đơn độc hoặc với loạt độ chuẩn của hợp chất thử nghiệm trong 30phút ở 37°C, 5% CO2 trong thiết bị ủ được làm ẩm. Sau khi ủ trước BAFF + hợp chất thử nghiệm, 50ul của (các) hỗn hợp được bổ sung vào 50ul tế bào và đĩa thử nghiệm được ủ tiếp ở 37°C (như mô tả) trong 24 giờ. Các mẫu đối chứng nhận hoặc AM (đối chứng không kích thích) hoặc BAFF trime tái tổ hợp của người pha loãng trong AM (đối chứng được kích thích). Sau 24 giờ ủ, huyền phù tế bào được xử lý với 100ul thuốc thử STEADY-Glo (Promega), theo hướng dẫn của nhà sản xuất, và thử nghiệm về mức biểu hiện luciferaza. Đơn vị huỳnh quang tương đối (RLU) thu được được vẽ đồ thị với giá trị Log10 của nồng độ nanomol của hợp chất thử nghiệm, trong đó giá trị IC_{50} & IC_{90} được tính bằng mô hình Logistic 4 thông số, hỗ trợ bởi chương trình Excel add-in Xlfit (ID Business Solutions Limited). Giá trị IC_{50} & IC_{90} của hợp chất thử nghiệm được tính như mô tả ở trên và giá trị trung bình hình học được tính trên nhiều thử nghiệm và trình bày trong Bảng 7.

Kết quả:

Hợp chất thử nghiệm ức chế kiểu phụ thuộc liều sự hoạt hóa NFkB do BAFF trime của người trong tế bào chỉ thị luciferaza TACI-CHO. Kết quả minh họa trong Bảng 7 chỉ ra rằng giá trị trung bình hình học IC_{50} & IC_{90} của hợp chất thử nghiệm là có thể so sánh hoặc mạnh hơn chất đối kháng BAFF đối chứng.

Bảng 7: Giá trị trung bình hình học IC_{50} và IC_{90} của mức ức chế BAFF trime của người trong tế bào chỉ thị TACI-CHO

Tên hợp chất	**Giá trị trung bình hình học cả IC50 pM**	**Giá trị trung bình hình học của IC90 pM**
Hợp chất A	159	417

Hợp chất B	159	510
Hợp chất D	163	436
Kháng thể đối chứng 1 (BAFF (1))	273	576
Chất đối kháng protein dung hợp đối chứng 2 (BAFF (2))	829	1945
Kháng thể đối chứng 3 (BAFF (3))	241	618

Ví dụ 6. Sự ức chế quá trình hoạt hóa NFkB do BAFF 60me trong tế bào chỉ thị luciferaza BAFFR-CHO

Nguyên liệu/Phương pháp:

Ngắn ngọn, tế bào chỉ thị luciferaza BAFFR CHO NFkB của người được thu hoạch, rửa, đếm và tạo huyền phù lại ở nồng độ 1,6 X 10^6 tế bào/ml trong môi trường thử nghiệm (AM) chứa 1% Penixillin/Streptomyxin (thể tích/thể tích) trong X-VIVO15, môi trường không có huyết thanh về mặt hóa học (Lonza). BAFF 60me tái tổ hợp của người (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) được chuẩn bị ở một nồng độ (4,2pM) trong AM và được ủ trước với AM đơn độc hoặc với loạt độ chuẩn của hợp chất thử nghiệm trong 30 phút ở 37°C, 5% CO2 trong thiết bị ủ được làm ẩm. Sau khi ủ trước BAFF + hợp chất thử nghiệm, 50ul (các) hỗn hợp được bổ sung vào 50 ul tế bào và đĩa thử nghiệm được ủ tiếp ở 37°C (như mô tả) trong 24 giờ. Các mẫu đối chứng nhận được AM (đối chứng không kích thích) hoặc BAFF 60me tái tổ hợp của người pha loãng trong AM (đối chứng được kích thích). Sau 24 giờ ủ, huyền phù tế bào được xử lý với 100ul thuốc thử STEADY-Glo (Promega), theo hướng dẫn của nhà sản xuất, và thử nghiệm về mức biểu hiện luciferaza. Đơn vị huỳnh quang tương đối (RLU) thu được được vẽ đồ thị với giá trị Log10 của nồng độ nanomol của hợp chất thử nghiệm, khi giá trị IC_{50} & IC_{90} được tính bằng mô hình logistic 4 thông số, hỗ trợ bởi chương trình Excel add-in Xlfit (ID Business Solutions Limited). Giá trị IC_{50} & IC_{90} của hợp chất thử nghiệm được tính như mô tả trên và giá trị trung bình hình học được tính trên nhiều thử nghiệm và trình bày trong Bảng 8.

Kết quả:

Hợp chất thử nghiệm ức chế theo kiểu phụ thuộc liều sự hoạt hóa NFkB do BAFF 60me của người trong tế bào chỉ thị luciferaza BAFFR-CHO. Các kết quả minh họa trong Bảng8 chỉ ra rằng giá trị trung bình hình học của IC_{50} & IC_{90} của hợp chất thử nghiệm A, B, C, D, O, P, Q và R là mạnh hơn tất cả ba chất đối kháng BAFF đối chứng.

Bảng 8: Giá trị trung bình hình học IC_{50} và IC_{90} của mức ức chế BAFF 60me của người trong tế bào chỉ thị BAFFR-CHO

Tên hợp chất	**IC_{50} (pM)**	**IC_{90} (pM)**
Hợp chất A	6	19
Hợp chất B	6	17
Hợp chất C	6	14
Hợp chất D	4	12
Hợp chất F	1300	7388
Hợp chất O	5	6
Hợp chất P	2	9
Hợp chất Q	5	13
Hợp chất R	5	16
Hợp chất X	1555	6839
Kháng thể đối chứng 1 (BAFF (1))	24075	180053
Chất đối kháng protein dung hợp đối chứng 2 (BAFF (2))	43	107
Kháng thể đối chứng 3 (BAFF (3))	15	38

Ví dụ 7: Trung hòa sự hoạt hóa NFkB do BAFF gắn kết với màng trong tế bào chỉ thị

luciferaza BAFFR-CHO

Nguyên liệu/Phương pháp

Tế bào CHO-K1 biểu hiện BAFF người được đếm và tạo huyền phù lại ở nồng độ 2 X 10^6 tế bào/ml trong môi trường phát triển chuẩn. Để dừng việc tách BAFF đã gắn kết với màng, các tế bào được xử lý với 0,125% paraformaldehyt (Electron Microscopy) và ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Tế bào BAFF CHO-K1 cố định của người sau đó được rửa và tạo huyền phù lại ở nồng độ 2 X 10^6 tế bào/ml trong môi trường phát triển chuẩn và ủ qua đêm ở 37^{0}C, 5% CO_2. Tế bào BAFF CHO-K1 cố định của người sau đó được thu hoạch và tạo huyền phù lại ở nồng độ 3,2X 10^6 tế bào/ml trong X-VIVO15, môi trường thử nghiệm (AM) không có huyết thanh về mặt hóa học (Lonza) chứa 1% Penixillin/Streptomyxin (thể tích/thể tích).

Tế bào chỉ thị luciferaza BAFFR CHO NFkB của người được thu hoạch, rửa, và tạo huyền phù lại ở nồng độ 1,6X 10^6 tế bào/ml trong môi trường thử nghiệm. Tế bào BAFF CHO-K1 cố định của người được chuẩn bị ở nồng độ 3,2 x 10^6 tế bào/ml trong AM và được ủ trước với loạt độ chuẩn của hợp chất thử nghiệm trong 30 phút sau đó được bổ sung vào 50ul tế bào chỉ thị luciferaza BAFFR CHO NFkB của người và sau đó ủ ở 37°C trong 24 giờ. Tế bào chỉ thị đối chứng được nhận hoặc là chỉ AM (đối chứng không kích thích) hoặc tế bào BAFF CHO-K1 cố định của người pha loãng trong AM (đối chứng được kích thích). Sau 24 giờ ủ, các mẫu được xử lý với 100ul thuốc thử STEADY-Glo (Promega), và thử nghiệm về mức biểu hiện luciferaza. Đơn vị huỳnh quang tương đối (RLU) được vẽ đồ thị với giá trị Log_{10} của nồng độ cỡ nanomol của hợp chất thử nghiệm, trong đó giá trị IC_{50} và IC_{90} được tính bằng mô hình logistic 4 thông số, hỗ trợ bởi chương trình Excel add-in Xlfit (ID Business Solutions Limited). Giá trị IC_{50} và IC_{90} của hợp chất thử nghiệm được tính như mô tả trên và giá trị trung bình hình học được tính trên nhiều thử nghiệm và trình bày trong Bảng 9.

Kết quả

Các hợp chất thử nghiệm ức chế theo kiểu phụ thuộc liều quá trình hoạt hóa NFkB do BAFF của người gắn kết với màng trong tế bào chỉ thị luciferaza BAFFR-CHO. Kết quả minh họa trong Bảng 9 chỉ ra rằng giá trị IC_{50} và IC_{90} của hợp

chất thử nghiệm là mạnh hơn cả ba chất đối kháng BAFF đối chứng.

Bảng 9: Giá trị trung bình hình học IC_{50} và IC_{90} của mức ức chế mbBAFF trong Tế bào chỉ thị BAFFR-CHO

Tên hợp chất	**IC_{50} (pM)**	**IC_{90} (pM)**
Hợp chất A	118	1015
Hợp chất B	125	1139
Hợp chất D	104	938
Kháng thể đối chứng 1 (BAFF (1))	553	10116
Chất đối kháng protein dung hợp đối chứng 2 (BAFF (2))	581	3678
Kháng thể đối chứng 3 (BAFF (3))	250	2916

Ví dụ 8: Sự ức chế hoạt tính của IL-23 của người trong tế bào nguyên bào lympho B (tế bào DB) có gen chỉ thị STAT3-luciferaza

Nguyên liệu/Phương pháp

Tế bào nguyên bào lympho B (tế bào DB; ATCC catalog # CRL-2289) được tải nạp ổn định cùng với gen chỉ thị STAT-3/luciferaza của lenti-virut (Qiagen). Các tế bào đã tải nạp được duy trì trong quá trình lựa chọn bằng cách sử dụng puromyxin (Life Technologies). Môi trường nuôi cấy nguyên vẹn là môi trường RPMI-1640 (Life Technologies) bổ sung FBS 10% (Hyclone) và puromyxin 2µg/mL (Life Technologies). Môi trường thử nghiệm là môi trường RPMI-1640 (Life Technologies) bổ sung FBS 10% (Hyclone).

Tế bào DB-STAT3 đã thao tác di truyền được cấy ở mức 20.000 tế bào/lỗ trong đĩa 96 lỗ, đáy phẳng, màu trắng ở mức 80µL/lỗ trong môi trường thử nghiệm. Các hợp chất thử nghiệm (10x) được chuẩn bị trong polypropylen, đĩa 96 lỗ đáy tròn trong môi trường thử nghiệm, và pha loãng dần để tạo ra các khoảng liều từ 1µg/mL đến 10pg/mL. 10µL phân tử thử nghiệm đã pha loãng hoặc môi trường thử nghiệm (cho

các lỗ đối chứng) được bổ sung vào mỗi lỗ lặp 3 lần. 10µL 10x IL-23 của người (đến nồng độ cuối là 75ng/mL/đĩa) được bổ sung vào mỗi đĩa. Theo cách khác, 10µL môi trường được bổ sung vào các lỗ đối chứng. Liều IL-23 được chọn để sử dụng trong thử nghiệm này là liều kích thích EC_{60} của IL-23 của người cho tế bào DB được thao tác di truyền như xác định trong các nghiên cứu trên. Các đĩa được ủ qua đêm ở 37°C trong 5% CO_2. Thuốc thử của thử nghiệm luciferaza ONE-Glo™ (Promega) được chuẩn bị và 100µL được bổ sung vào mỗi lỗ và trộn. Mức phát quang được đo trên máy đọc đĩa Envision và sau đó được vẽ đồ thị (trục-y) so với nồng độ kháng thể (trục-x). Giá trị IC_{50} của các hợp chất được xác định bằng cách đưa số liệu vào một hàm đáp ứng-liều 4-thông số hình chữ S bằng phần mềm GraphPad Prism 6. Giá trị IC_{90} được xác định bằng cách tính số liệu với công cụ Find ECanything bằng phần mềm Đồ thịPad Prism 6. Giá trị trung bình hình học được tính trên nhiều thử nghiệm và trình bày trong Bảng 10.

Kết quả

Các kết quả thể hiện rằng các hợp chất thử nghiệm có khả năng ức chế hoạt tính của IL-23 của người trong tế bào DB có gen chỉ thị STAT3-luciferaza.

Bảng 10. Giá trị trung bình hình học IC_{50} và IC_{90} của mức ức chế IL-23 của người trong tế bào nguyên bào lympho B

Tên hợp chất	**IC_{50} (pM)**	**IC_{90} (pM)**
Hợp chất A	145	1229
Hợp chất B	161	1101
Hợp chất C	189	2330
Hợp chất D	128	3087
Kháng thể đối chứng 4 (IL-23A (1))	79	634

Ví dụ 9: Ức chế IL-23 hoạt tính của người và khỉ đuôi dài ở tế bào đơn nhân lách của chuột

Nguyên liệu và phương pháp

Tế bào đơn nhân từ lách chuột (chuột cái C57BL/6 nhỏ hơn 13 tuần tuổi; Jackson Laboratories) được tách rửa, đếm, và tạo huyền phù lại ở mức $4x10^6$ tế bào/ml trong môi trường tế bào T chuẩn (T cell media - TCM). 100 microlit huyền phù mIL-2/tế bào đơn nhân lách được bổ sung vào đĩa vi chuẩn 96 lỗ. IL-23 tái tổ hợp của người (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) hoặc IL-23 tái tổ hợp khỉ đuôi dài (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) được pha loãng trong TCM và được ủ trước trong 2 giờ ở 37°C với TCM đơn độc hoặc với các độ chuẩn của mẫu thử nghiệm. Sau khi ủ trước mẫu thử nghiệm + IL-23, 100ul hỗn hợp này được bổ sung vào các tế bào và đĩa thử nghiệm được ủ ở 37°C với không khí 5% CO_2-ẩm hóa trong 48 giờ. Các mẫu đối chứng được nhận hoặc TCM (đối chứng không kích thích) hoặc IL-23 tái tổ hợp đã được pha loãng trong TCM (đối chứng được kích thích). Sau khi ủ, mức IL-17 của chuột được xác định từ phần nổi bề mặt bằng thử nghiệm miễn dịch IL-17 của chuột Quantikine® theo hướng dẫn của nhà sản xuất (R&D Systems). Giá trị mIL-17pg/ml nội suy được được xác định với mỗi mẫu và chuyển thành giá trị phần trăm đối chứng (percent of control - POC). POC được vẽ đồ thị so với nồng độ của mẫu thử nghiệm và giá trị IC_{90} được tính bằng mô hình logistic 4 thông số có được bởi chương trình Excel add-in XLfit (phần mềm Activity Base, ID Business Solutions, Ltd.). Các hợp chất thử nghiệm được phân tích về giá trị IC_{50} và IC_{90} như mô tả ở trên, và giá trị trung bình hình học được tính trên nhiều thử nghiệm cho mỗi hợp chất thử nghiệm và thể hiện trong Bảng 11.

Kết quả

Các kết quả thể hiện rằng hợp chất thử nghiệm là có thể ức chế sự giải phóng tế bào đơn nhân lách chuột do cả-IL23 của người và khỉ đuôi dài của IL-17 chuột.

Bảng 11: Giá trị trung bình hình học IC_{50} và IC_{90} của mức ức chế IL-23 của người và khỉ đuôi dài ở tế bào đơn nhân lách của chuột

Tên hợp chất ID	**IL23 của người**		**IL23 khỉ đuôi dài**	
	IC_{50} (pM)	**IC_{90} (pM)**	**IC_{50} (pM)**	**IC_{90} (pM)**

Hợp chất A	146	1647	155	1309
Hợp chất B	202	1360	200	1480
Hợp chất C	133	761	110	880
Hợp chất D	105	1700	97	1554
Kháng thể đối chứng 4 (IL-23A (1))	84	366	64	331

Ví dụ 10. Dược động học của các hợp chất ở khỉ đuôi dài

Nguyên liệu và phương pháp:

Các nghiên cứu PK liều đơn trong tĩnh mạch (IV) của hợp chất thử nghiệm A, B, C, và D được tiên hành trên khỉ đuôi dài đực (n = 2 với mỗi phân tử). Các liều được sử dụng là tiêm liều lớn IV 1mg/kg chậm. Mẫu máu toàn phần được lấy trước khi tiêm thuốc và 0,25, 2 và 6 giờ sau khi dùng thuốc vào ngày tiêm thuốc và 1, 2, 3, 4, 7, 10, 14, 21, và 28 ngày sau khi tiêm thuốc. Nồng độ huyết thanh của các phân tử cho dùng được định lượng bằng thử nghiệm gắn kết phối tử dựa trên MSD.

Đường cong chuẩn chuẩn hóa và các mẫu bảo quản chất lượng (QC) được chuẩn bị trong 100% huyết thanh khỉ đuôi dài được phân nhóm. Mỗi đường cong chuẩn gồm có bảy điểm khác 0 bắt đầu ở 512ng/mL sau đó pha loãng dần 3 lần. Mẫu trắng (hệ nền không có chất cần phân tích) cũng nằm trong đó. Sáu mẫu QC ở khoảng thấp, trung bình, và cao được chuẩn bị bắt đầu ở 256ng/mL, sau đó pha loãng dần bốn lần đến 8ng/mL, sau đó pha loãng 2 lần để chuẩn bị QC thấp nhất tại 4 ng/mL. Đường cong chuẩn và các mẫu QC được đưa vào thành hai lần trong mỗi lần chạy phân tích. Giới hạn trên và dưới của định lượng được xác định là điểm QC thấp nhất và cao nhất có nồng độ tính được có độ lặp lại không vượt quá 30 phần trăm (%) của nồng độ định mức. Tiêu chuẩn chấp nhận của các điểm trên đường cong chuẩn là 30 phần trăm (%) của nồng độ định mức.

Để định lượng nồng độ dược chất hoạt động trong các mẫu huyết thanh, hỗn hợp gốc được chuẩn bị, kết hợp 0,5µg/mL BAFF tái tổ hợp của người được biotinyl

hóa và 0,5µg/mL chất phát hiện IgG dê kháng người được gắn nhãn sulfo trong đệm gắn kết (5% BSA trong 1x PBS với 0,05% Tween 20). Hỗn hợp gốc được bổ sung vào đĩa 96 lỗ không gắn kết và chắn ánh sáng ở mức 50µL mỗi lỗ. 25µL chất chuẩn và QC (chất bảo quản được pha loãng tỷ lệ 1:20 trong đệm gắn kết) được bổ sung vào mỗi lỗ thành hai phần/lần vào đĩa không gắn kết chứa hỗn hợp gốc. Các mẫu huyết thanh chưa biết rõ được pha loãng tỷ lệ 1:20 trong đệm gắn kết và tỷ lệ 1:400 trong đệm gắn kết chứa 5% huyết thanh. 25µL các mẫu đã pha loãng được bổ sung vào mỗi lỗ vào các đĩa không gắn kết chứa hỗn hợp gốc. Các đĩa không gắn kết được ủ ở nhiệt độ phòng trên máy rung đĩa (500 vòng/phút, 1,5 giờ). Song song, một đĩa MSD streptavidin vàng được phong bế bằng 150µL đệm phong bế (5% BSA với 1X PBS với 0,05% Tween 20) và ủ ở nhiệt độ phòng trên máy rung đĩa (500 vòng/phút, 1,5 giờ). Sau khi ủ, các đĩa MSD được rửa ba lần với 300µL dung dịch đệm rửa trên mỗi lỗ (0,05% Tween 20 trong 1XPBS). 50µL mẫu từ các đĩa không gắn kết được bổ sung vào các đĩa MSD và ủ ở nhiệt độ phòng (1,5 giờ, 600 vòng/phút). Sau khi ủ, các đĩa được rửa ba lần bằng dung dịch đệm rửa, và 150µL 2x đệm đọc Read Buffer T được bổ sung vào mỗi lỗ và đọc ngay trên thiết bị MSD Sector Imager 2400. Đường cong chuẩn được chuẩn với phương trình logistic bốn-thông số bằng phần mềm MSD Discovery Workbench. Các thông số dược động học được tính bằng phép phân tích không khoanh vùng trong Phoenix WinNonlin 6.3 (Certara, MD, USA).

Kết quả:

Profin của nồng độ huyết thanh trung bình (SD) so với thời gian của hợp chất thử nghiệm được minh họa trong Fig.2. Thông số dược động học trung bình (SD) của hợp chất thử nghiệm được tổng kết trong Bảng 12. Các mẫu huyết thanh biểu hiện sự giảm đột ngột nồng độ thuốc so với thời gian được xác nhận là kháng thể kháng-dược chất dương tính sẽ bị loại khỏi bước tính toán thông số dược động học.

Bảng 12: Thông số dược động học trung bình (SD) của hợp chất thử nghiệm ở khỉ đuôi dài đực sau một liều 1mg/kg trong tĩnh mạch

Hợp chất ID	AUC 0-cuối cùng	AUC 0-vô tận (µg*d/mL)	CL	Vss (mL/kg)	T ½ (ngày)

	(µg*d/mL)		(mL/ngày/kg)		
Hợp chất A	52,5 (6,6)	54,2 (7,1)	18,6 (2,4)	61,6 (4,3)	3,1 (0,3)
Hợp chất B	102,7 (1,8)	127,0 (3,6)	7,9 (0,2)	64,4 (6,6)	6,2 (0,7)
Hợp chất C	26,6 (1,4)	27,0 (1,3)	37,1 (1,8)	66,9 (13,2)	2,3 (0,4)
Hợp chất D	33,8 (1,3)	34,5 (1,8)	29,0 (1,5)	55,7 (5,5)	2,8 (0,8)

Ví dụ 11. Dự đoán PK ở người và liều ở người của hợp chất ví dụ

Thang điểm Dedrick cơ bản được sử dụng để chấm điểm nồng độ huyết thanh trung bình ở khỉ của Hợp chất B với người, sử dụng số mũ tương quan là 1,0 cho thể tích phân bố và 0,85 cho độ thanh thải. Profin nồng độ huyết thanh-thời gian tiêm tĩnh mạch của người dự đoán được hiệu chỉnh với mô hình hai ngắn tuyến tính. Profin nồng độ huyết thanh-thời gian tiêm dưới da của người được dự đoán bằng cách so sánh các thông số từ mô hình tiêm tĩnh mạch hai vùng khoanh vùng có tỷ lệ hấp thu đường tiêm dưới da trung bình và sinh khả dụng quan sát được với các mAb để chữa bệnh có trên thị trường. Độ thanh thải và thời gian bán thải cuối cùng được dự đoán lần lượt là 0,34L/ngày và 9,9 ngày ở người khỏe mạnh. Profin nồng độ huyết thanh-thời gian của người dự đoán của hợp chất B, sau liều 100mg tiêm dưới da sử dụng một lần mỗi hai tuần, được trình bày trong FIG.3.

Liều có hiệu lực ở người dự đoán được là 1mg/kg phân phối tiêm dưới da một lần mỗi hai tuần. Phác đồ liều được dự đoán để duy trì giá trị Cmin ≥ 30nM (6µg/mL) với việc sử dụng một lần mỗi hai tuần hoặc lâu hơn. Liều có hiệu lực dự đoán có thể dựa trên đáp ứng nồng độ-PD của chất đánh dấu sinh học quan sát được đối với belimumab (Benlysta®), tabalumab và blisibimod ở bệnh nhân SLE và RA. Trong các nghiên cứu này, mức ức chế tối đa của chất đánh dấu sinh học liên quan đến BAFF được kết hợp với giá trị Cmin trạng thái ổn định 30-40nM. Nồng độ đòi hỏi để trung

hòa IL23 thấp hơn nhiều so với nồng độ đòi hỏi để trung hòa BAFF, và do đó không ảnh hưởng đến giá trị Cmin tổng thể đòi hỏi của chất đối kháng kép.

Ví dụ 12. Tinh chế hợp chất

Phương pháp:

Hợp chất được tinh chế bằng Mab Select SuRe là bước tinh chế ái lực.

Việc rửa giải được tiến hành bằng dung dịch đệm natri axetat độ pH = 3,5. Sau khi tinh chế bằng Mab Select SuRe, mẫu được trung hòa và áp dụng lên nhựa Poros 50 HS và rửa giải bằng građient natri clorua trong đệm natri xitrat. Đỉnh monome rửa giải ở vị trí 20mM Na xitrat và 120mM NaCl độ pH = 6,0. Sau khi sắc ký trao đổi ion, mẫu có mức ổn định >95% là monome.

Thử nghiệm vận tốc lắng đọng (SV) thông qua kỹ thuật siêu ly tâm phân tích (AUC - Analytical ultracentrifugation) được sử dụng để cung cấp thông tin về độ tinh khiết của mẫu và trạng thái kết tụ. Các mẫu được ly tâm trong máy optima XL-I (Beckman Coulter, Fullerton, CA) ở 20°C sử dụng đĩa quay bốn lỗ An60Ti chạy ở tốc độ 40.000 vòng/phút. Quy trình lắng đọng được kiểm tra bằng độ hấp thụ tử ngoại ở 280nm, sử dụng đệm pha loãng tương ứng làm đệm đối chứng. Độ biến đổi về phân bố nồng độ trong buồng siêu ly tâm với thời gian được thu thập bằng phần mềm điều hành XL-I và được phân tích bằng mô hình phân bố liên tục (S) trong phần mềm SEDFIT (phiên bản 14.1) để thu được độ phân bố của hệ số lắng đọng. Phần trăm monome được tính dựa trên diện tích đỉnh hợp nhất.

Kết quả:

Kết quả về độ tinh khiết của hợp chất được trình bày trong Bảng 13. Số liệu thể hiện rằng các hợp chất có độ tinh khiết và đồng nhất cao, biểu thị cho độ ổn định cao.

Bảng 13

Tên thông số	Hợp chất A, B, C, D
Phần trăm monome (vận tốc lắng đọng)	99% monome 1% kết tụ

Ví dụ 13: Profin phổ khối lượng của các hợp chất

Phương pháp:

Mẫu tự nhiên

Quy trình này tính được khối lượng nguyên vẹn của hợp chất hoặc protein. 0,15ul mẫu được bơm lên cột Agilent PoroShell 300SB-C3, 5um, (30x1,0mm). Nhiệt độ cột là 80°C và tốc độ dòng là 150ul/phút. Hợp chất hoặc protein được rửa giải từ cột với građient từ 10%B ở 0 phút đến 85%B ở 6 phút. Pha động A là nước/axetonitril/axit formic/amoni axetat (99/1/0,1/2mM) và pha động B là n-propanol/axetonitril/nước/axit formic (70/20/10/0,1). Dịch rửa giải được chạy hướng vào khối phổ kế Agilent 6224 TOF, thiết bị này sẽ quét từ khối lượng 600 đến khối lượng 3200. Số liệu thô được giải chập bởi chương trình MassHunter.

Mẫu khử

Quy trình này tính được khối lượng của protein hoặc chuỗi nhẹ và khối lượng của chuỗi nặng. 5ul mẫu được bổ sung vào 5uL hỗn hợp tỷ lệ 20:1 của Guanadin HCL 8M:TCEP và ủ trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. 0,15ul mẫu này được bơm như trên, với sự khác biệt sau: hợp chất hoặc protein được rửa giải từ cột với građient từ 5%B ở 0 phút đến 85%B ở 6 phút, nhiệt độ cột là 60°C và khoảng khối lượng là 600-2000.

Mẫu deglycosyl hóa

Quy trình này tính được khối lượng deglycosyl hóa của protein hoặc chuỗi nhẹ và chuỗi nặng. 7,5ul mẫu được bổ sung vào 3,2uL hỗn hợp tỷ lệ 20:1 của amoni bicacbonat 400mM:PNGaza F và ủ trong 3 giờ ở 37°C. Sau đó, 10ul hỗn hợp tỷ lệ 20:1 Guanadin HCL 8M:TCEP được bổ sung vào mẫu và ủ trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Mẫu này được bơm như trên đối với mẫu khử.

Vẽ bản đồ peptit bằng phổ khối lượng

Các mẫu được pha loãng vào dung dịch đệm biến tính chứa GdHCl 6M, Tris-HCL 250mM độ pH 7,5 và DTT 10mM và sau đó ủ ở 37°C trong 30 phút. Các mẫu sau đó được alkyl hóa với iodoaxetamit, và ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được tinh chế và và trao đổi đệm trong Tris-HCL 100mM độ pH =7,5 bằng hộp Sephadex G-25 Superfine. Các mẫu sau đó cắt bằng trypsin trong vòng 4 giờ ủ ở 37°C. Hỗn hợp phản ứng đã được cắt đoạn sau đó được

dập tắt bằng cách bổ sung TFA.

Đoạn cắt bởi trypsin thu được được bơm lên trên cột pha đảo Phenomenex Jupiter C18 thông qua máy lấy mẫu tự động của Dionex Ultimate 3000 HPLC. Hệ dung môi gradient gồm có dung môi A: 0,1% axit formic/99% nước/1% axetonitril và dung môi B: 0,1% axit formic/5% nước/95% axetonitril được áp dụng. Phần trăm dung môi B được tăng từ 0% đến 38% trong 140 phút. Việc tách bằng sắc ký diễn ra ở nhiệt độ phòng ở tốc độ dòng là 100µl/phút. Bảo quản mẫu trong máy lấy mẫu tự động ở 4°C. Sau bước tách bằng sắc ký, mẫu này đi vào khối phổ kế Thermo Scientific Orbitrap Fusion hoạt động theo kiểu ion hóa tia điện dương. Phương pháp được sử dụng này bao gồm kiểu hoạt hóa CID sử dụng mức phân giải là 30.000, tín hiệu tối thiểu là 10.000, chiều rộng phân tách là 1,0 và năng lượng va chạm chuẩn hóa là 35,0V. Mức RF thấu kính S được đặt ở mức 20%. Kiểu thu số liệu là profin của ảnh quét MS toàn bộ và giá trị trọng tâm của số liệu CID MS/MS. Số liệu được thu thập trên một khoảng khối lượng là 250-2000 Da ở tốc độ thu nhận là 1 phổ/giây.

Số liệu phân mảnh LC-MS và LC-MS/MS thôn thu được từ đoạn cắt bằng enzym được phân tích bằng chương trình Proteome Discover 1.4 (Thermo Scientific) so với trình tự được nêu. Sau đó Các peptit đã được xác định chứa trình tự liên ứng của N-X-S/T (X không phải là P) được phân tích bằng cách trừ bằng tay giá trị EIC cho các peptit glycosyl hóa. Cường độ MS của peptit glycosyl hóa trong toàn bộ EIC được sử dụng để ước tính phần trăm của chúng so với tổng lượng tích lũy của các glycoform.

Kết quả:

Kết quả được trình bày trong Bảng 14. Số liệu chỉ thị trình tự axit amin và cấu trúc dự tính đã được biểu hiện và phục hồi mà không có sự không đồng nhất ngoài dự tính. Mẫu glycosyl hóa này là đặc trưng cho một kháng thể thông thường được biểu hiện trong tế bào CHO và không biểu hiện cấu trúc không điển hình bất kỳ.

Bảng 14:

Thông số	**Hợp chất B**
Phổ khối lượng: Profin	Trình tự nguyên vẹn/khớp

trọng lượng phân tử nguyên vẹn	
Phổ khối lượng: Profin glycosyl hóa	Tương tự với CHO biểu hiện IgG

Ví dụ 14: Hàm lượng monome ở nồng độ cao

Mục đích của quy trình là đánh giá đặc điểm riêng của hợp chất B bằng cách đo mức kết tụ với nồng độ tăng dần. Đệm chuẩn chứa Naxitrat 20mM, NaCl 120mM độ pH = 6 được sử dụng mà không cần đánh giá công thức để hiểu được xu hướng kết tụ của hợp chất.

Phương pháp:

Hợp chất B được cô dần đến nồng độ cao có thể mà không quan sát thấy sự kết tủa bằng phễu lọc ly tâm Amicon Ultra với ngưỡng trọng lượng phân tử là 50.000 Dalton (Millipore, Billerica). Dung dịch protein đã cô sau đó được đưa vào phân tích analytical SEC để cung cấp thông tin về độ tinh khiết của mẫu và trạng thái kết tụ. Sắc ký được chạy bằng hệ HPCL dãy Agilent 1200 HPLC. Hệ này được chạy ở tốc độ 1,0ml/phút trong 23 phút. ~30ug nguyên liệu được bơm vào trong cột Tosoh Biosciences TSKgel G3000SWXL (5um 250a 7,8x30 cm) và kết quả được đọc ở 280nm. Dung dịch đệm chạy sử dụng là NaPhosphat 50mM, L-arginin 0,2M độ pH = 6,8.

Kết quả:

Tổng kết số liệu SEC phân tích của hợp chất B trong quá trình cô được nêu trong Bảng 15 và FIG.4. Số liệu nêu mức kết tụ và độ tinh khiết của mẫu ở nồng độ tăng dần được thể hiện chứng minh rằng hợp chất B không có xu hướng kết tụ khi nồng độ tăng.

Bảng 15. Tổng kết số liệu SEC phân tích của hợp chất B trong quá trình cô

Nồng độ hợp chất B (mg/ml)	**Số liệu SEC phân tích**

10	99,6% monome, 0,4% kết tụ
20	99,5% monome, 0,5% kết tụ
40	99,6% monome, 0,4% kết tụ
75	99,5% monome, 0,5% kết tụ
100	99,5% monome, 0,5% kết tụ
121	99,5% monome, 0,5% kết tụ

M = monome, A = kết tụ

Ví dụ 15: Bậc hóa trị của hợp chất

Phương pháp:

Phương pháp điện di màng bám phân tích được sử dụng để đo độ hóa trị của các hợp chất đã được thẩm tách trước vào dung dịch đệm chứa Axetat 10mM, KCl 50mM độ pH = 5,0 qua đêm. Trong thiết kế của thử nghiệm, 20µL mẫu ở nồng độ 1mg/mL được nạp vào trong cuvet bằng thạch anh 2x2x4mm3 mà cả hai đầu được đậy bằng 10 màng xenluloza bán thấm tái chế tiêu chuẩn MWCO BioTech. Các màng này sẽ giữ lại đại phân tử trong khi cho phép nước và các thành phần dung môi đi qua. Sau đó, dòng điện cỡ 1mA được cho đi qua cuvet, tạo ra một điện trường theo chiều dài của nó trong đó đại phân tử tích điện di chuyển trong điện trường này với dòng liên tục đệm sạch. Giới hạn nồng độ di chuyển theo thời gian thực được phát hiện bằng mảng quang điốt tuyến tính (LPDA) cung cấp kết quả đọc cường độ nằm dọc theo cuvet. Tốc độ ở nồng độ giới hạn được sử dụng để tính độ di động điện di và sau đó là độ hóa trị hoạt động. Thông tin bổ sung như góc Stokes (thu được từ lần chạy vận tốc lắng đọng trong AUC), bán kính đối ion (0,122nm đối với ion clorua), sau đó độ dẫn điện của dung dịch đệm (6,35 mS) và cường độ ion (0,05M) được sử dụng để bộc lộ độ hóa trị cơ bản của đại phân tử.

Kết quả:

Số liệu về bậc hóa trị (xem Bảng 16) chỉ thị độ ổn định keo của hợp chất trong dung dịch, tức là tương tác mạng của protein và protein trong dung dịch. Các hợp chất

có bậc hóa trị cao hơn 15 có tương tác đẩy trong mạng mạnh và khả năng để bào chế cao ở nồng độ cao.

Bảng 16. Số liệu về bậc hóa trị của các hợp chất

Hợp chất ID	**Bậc hóa trị ở độ pH = 5,0**
Hợp chất A	24,4 ± 0,2
Hợp chất B	21,5 ± 0,3
Hợp chất D	21,8 ± 0,2

Ví dụ 16: Độ ổn định của các hợp chất trong máu toàn phần

Phương pháp

Thử nghiệm gây nhiễu trong máu toàn phần được phát triển trên Octet RED96 để phát hiện hiệu quả gắn kết không đặc hiệu hoặc gắn kết sai đích của hợp chất trong sự có mặt của máu toàn phần (WB). Dung dịch hợp chất trong máu toàn phần và đệm chạy động học 1x (1xkb) được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 48 giờ. Tiến hành đo động học của các mẫu hợp chất đã ủ bằng máy Octet RED96 trang bị đầu cảm biến sinh học streptavidin (SA) (ForteBio, Menlo Park, CA) ở 27°C. Tỷ lệ tín hiệu gắn kết/kết hợp trong đệm và máu toàn phần được ghi chép. Tỷ lệ < 2 được coi là không có sự gây nhiễu.

Kết quả

Các kết quả được trình bày trong Bảng 17. Không quan sát thấy sự gây nhiễu của máu toàn phần đối với hợp chất thử nghiệm.

Bảng 17. Kết quả gắn kết trong máu toàn phần của các hợp chất

Thông số	Tỷ lệ của tín hiệu gắn kết trong WB/đệm động học với BAFF của người	Tỷ lệ của tín hiệu gắn kết trong WB/đệm động học với IL23 của người
Hợp chất A	1,2	1,1

Hợp chất B	1,2	1,5
Hợp chất C	1,1	1,3
Hợp chất D	1,3	1,7
Hợp chất E	1,0	1,1
Hợp chất F	1,0	1,2

Ví dụ 17: Dự báo về khả năng sinh miễn dịch *in silico*

Phương pháp

Khả năng sinh miễn dịch của protein điều trị bệnh được dự đoán *in silico* bằng cách sử dụng công cụ máy tính, EpiMatrix được phát triển bởi EpiVax, Inc. (Providence, RI). EpiMatrix kết hợp dự đoán về epitop T-trợ giúp cũng như epitop T-điều hòa, trong đó epitop T-trợ giúp là để kích thích đáp ứng miễn dịch trong khi epitop T-điều hòa là để ức chế. Ngắn gọn, đầu tiên trình tự protein được phân tách thành các khung 9-me peptit gối lên nhau, đã được chứng minh là cốt lõi cho sự gắn kết HLA nhóm II. Khả năng gắn kết của các peptit 9-me với mỗi trong số tám alen HLA nhóm II chung được đánh giá dựa trên số liệu thử nghiệm hoặc dự đoán bằng máy tính. Lập ra chỉ số để phản ánh khả năng gắn kết của peptit 9-me với mỗi alen HLA và tiến hành chuẩn hóa để có thể so sánh phân tử 9-me bất kỳ trong số nhiều alens HLA và có thể dự đoán khả năng sinh miễn dịch trên chỉ số tổng thể. Cuối cùng, chương trình này tạo ra 'chỉ số sinh miễn dịch' tổng thể, chỉ số Epx điều chỉnh với tReg, là khả năng mà hợp chất sẽ gây ra đáp ứng miễn dịch *in vivo*.

Kết quả

Các kết quả được trình bày trong Bảng 18. Chỉ số sinh miễn dịch tổng thể của hợp chất thử nghiệm là thấp và dự báo rằng các hợp chất này không có khả năng gây ra phản ứng miễn dịch mạnh *in vivo*.

Bảng 18: Chỉ số EpiVax

Thông số	**Chỉ số EpiVax (chuỗi 1, chuỗi 2)**

Hợp chất A	-46,13, -28,39
Hợp chất B	-45,77, -28,39
Hợp chất C	-41,40, -28,42
Hợp chất D	-41,01, -28,42
Hợp chất E	-39,81, -41,43
Hợp chất F	-42,15, -36,94
Hợp chất G	-43,75, -29,30
Hợp chất H	-35,19, -43,44
Hợp chất I	-43,38, -29,30
Hợp chất J	-34,78, -43,44
Hợp chất K	-43,75, -33,61
Hợp chất L	-37,80, -43,44
Hợp chất M	-43,38, -33,61
Hợp chất N	-37,40, -43,44
Hợp chất O	-34,66, -39,56
Hợp chất P	-34,24, -39,56
Hợp chất Q	-34,64, -47,37
Hợp chất R	-34,22, -47,37
Hợp chất S	-40,96, -40,09
Hợp chất T	-43,91, -40,09
Hợp chất U	-41,31, -44,98
Hợp chất V	-42,53, -36,94
Hợp chất W	-38,33, -44,98
Hợp chất X	-39,42, -41,43

Ví dụ 18: Sự ức chế BAFF của người trong thử nghiệm tăng sinh nguyên phát tế bào B của người

Nguyên liệu và phương pháp

Các mẫu máu của người khỏe mạnh bình thường (n = 3 người cho) sử dụng trong thử nghiệm này được mua từ Biological Specialty Corporation, Philadelphia, PA. Môi trường nuôi cấy nguyên vẹn là IMDM (Life Technologies) được bổ sung FBS 10% (Life Technologies) và Pen/Strep (Life Technologies). Đệm phân tách tế bào B gồm có DPBS sạch không có Mg^{++} và Ca^{++} (Life Technologies) và FBS 2% và EDTA 2mM (Life Technologies).

Phân tách tế bào B của người từ máu toàn phần người khỏe mạnh

400mL máu toàn phần được xử lý với heparin được chuyển vào chai polystyren 1000mL vô khuẩn và một thể tích tương đương DPBS được bổ sung vào. 35mL máu được pha loãng với PBS được đặt ở trên cùng của 15mL građient Ficoll-Paque™ Plus (GE Healthcare) nạp sẵn trong ống polystyren 50mL đáy tròn. Các ống này được ly tâm ở tốc độ 2000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong 20 phút mà không dừng lại. Tiếp theo, hai phần ba của phần nổi trên cùng được hút ra, và lớp màu xám ở giữa chứa máu ngoại vi tế bào đơn nhân (PBMC) được chuyển vào ống 50mL hình nón. DPBS (không chứa Ca++ và Mg++) + 2% FBS được bổ sung vào, đến thể tích 50mL. Các ống này được quay chậm lại ở tốc 1200 vòng/phút trong 10 phút. Các viên tế bào thu được được tạo huyền phù lại với DPBS (không chứa Ca++ và Mg++) + 2% FBS (dung dịch đệm rửa), và bước ly tâm (1200 vòng/phút trong 10 phút) được lặp lại. Các viên tế bào được tạo huyền phù lại trong dung dịch đệm rửa đến thể tích 50mL. Khả năng sống của tế bào và nồng độ tế bào được đo ở thời điểm này.

Sau đó, ống được quay chậm lại ở tốc độ 1200 vòng/phút trong 10 phút, và phần nổi bề mặt được loại bỏ. Các viên tế bào được tạo huyền phù lại với môi trường nuôi cấy nguyên vẹn và nồng độ tế bào được điều chỉnh đến mức 5×10^6 tế bào/mL. Các tế bào đã được tạo huyền phù được đặt vào trong bình nuôi cấy mô $75cm^2$ và ủ trong máy ủ 5% CO_2 (ở 37°C) qua đêm. Tế bào B sau đó được phân tách bằng cách sử

dụng kit Dynabeads® Untouched™ Human B-Cell (Life Technologies) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Nồng độ tế bào được điều chỉnh để thích hợp với quy trình xuôi dòng sau khi đo nồng độ và khả năng sống của tế bào.

Đánh giá sự tăng sinh tế bào B bằng thử nghiệm kết hợp ^{3}H-thymidin

Tế bào B được cấy trong các đĩa nuôi cấy mô Falcon, đáy tròn, 96 lỗ (1×10^5 tế bào/100µL môi trường nuôi cấy trong mỗi lỗ). Sau đó, hợp chất thử nghiệm được chuẩn bị ở nồng độ 4x tăng dần nằm trong khoảng từ 0,028 đến 20nM và tác nhân kích thích tế bào B (kháng thể kháng-IgM và BAFF của người) ở các nồng độ 4x (8µg/mL và 20ng/mL, lần lượt) với môi trường nuôi cấy nguyên vẹn. 50µL hợp chất thử nghiệm đã pha loãng trước được bổ sung vào các lỗ tương ứng (0,007 đến 5nM, nồng độ cuối). Sau đó, 50µL IgM dê kháng-người đã pha loãng trước (2µg/mL, nồng độ cuối) và hBAFF (5ng/mL hoặc 98pM, nồng độ cuối) được bổ sung vào các lỗ tương ứng (xem Fig.6). Tế bào B được nuôi cấy trong thiết bị ủ được làm ẩm điều kiện 5% CO_2 37°C trong 72 giờ. 18 giờ trước khi kết thúc ủ, 20µL 1µCi ^{3}H-thymidin (Pelkin Elmer) được bổ sung vào mỗi lỗ. Máy thu hoạch tế bào được sử dụng để chuyển ADN/lỗ kết hợp với ^{3}H-thymidin sang đĩa lọc thủy tinh vi sợi, trong đó 30µL gen tăng cường phát sáng được bổ sung vào các lỗ sau khi sấy khô bằng khí đĩa này trong ít nhất 4 giờ. Giá trị đếm được trong mỗi phút (cpm) của mỗi lỗ được đo bằng MicroBeta Topcount, và giá trị cpm (trục-y) so với nồng độ của các hợp chất thử nghiệm (x-axis) được vẽ đồ thị.

Phân tích thống kê

Giá trị IC_{50} và IC_{90} được xác định bằng cách hiệu chỉnh đường cong số liệu với hàm đáp ứng - liều 4 thông số hình chữ S sử dụng phần mềm GraphPad Prism 6. Giá trị trung bình hình học được tính toán trên 3 thử nghiệm và trình bày trong Bảng 19.

Kết quả

Các kết quả thể hiện rằng Hợp chất B dường như mạnh gấp khoảng 2 lần so với kháng thể đối chứng 3 khi so sánh giá trị IC_{50} và IC_{90}.

Bảng 19. Giá trị trung bình hình học IC50 và IC90 của mức ức chế BAFF của người trong thử nghiệm tăng sinh nguyên phát tế bào B của người

Hợp chất ID	**IC_{50} (pM)**	**IC_{90} (pM)**
Hợp chất B	33,7	160,2
Kháng thể đối chứng 3 (BAFF (3))	87,3	370,8

Ví dụ 19. Ức chế số lượng tế bào B B220+ do sự biểu hiện quá mức BAFF của người ở chuột B10.RIII

Nguyên liệu và phương pháp

Ngắn gọn, vào ngày 1, chuột cái B10.RIII (6-8 tuần tuổi, Jackson Laboratory) được chia ngẫu nhiên thành 10 nhóm, 10 chuột/nhóm và cho tiêm trong màng bụng 100µl hoặc dung dịch đệm xitrat (NaXitrat 20mM, NaCl 115mM, độ pH = 6,0) hoặc hợp chất thử nghiệm ở liều mol tương đương lần lượt là 1,3, 0,4 và 0,13 mg/kg và 1, 3 và 0,1 mg/kg. Chuột chưa từng được xử lý là chuột đối chứng phụ. Ngay sau khi xử lý trị ngày 1, chuột được sử dụng một liều 3mg (1,5mg/mL) ADN plasmit vòng kích thước nhỏ BAFF của người (System Biosciences) bằng cách tiêm thủy lực so với nhóm đối chứng là vectơ rỗng (EV). Việc xử lý trong màng bụng với hoặc dung dịch đệm xitrat hoặc hợp chất thử nghiệm được lặp lại mỗi 72 giờ vào ngày 3, 6, 9 và 12.

Vào ngày 14, chuột được gây mê bằng isofluran (Butler Schein) và cho chết bằng cách làm gẫy cổ. Lách được lấy ra và huyền phù tế bào được phân tích bằng máy đếm dòng tế bào đối với tế bào B B220+. Giá trị trung bình của mỗi nhóm xử lý được xác định và so sánh mức ý nghĩa để được tính kiểm soát bằng kiểm định ANOVA một chiều sau đó là kiểm định đa so sánh Dunnett. Kết quả được trình bày trong FIG.5.

Kết quả

Kết quả thể hiện rằng việc xử lý trong 14 ngày bằng Hợp chất B có khả năng ức chế đáng kể sự nhân lên của tế bào B B220+ do ADN plasmit vòng kích thước nhỏ BAFF của người.

Ví dụ 20. Ức chế sự giải phóng IL17A và IL22 của chuột do IL23 người ở chuột C57/Bl6

Nguyên liệu và phương pháp

Ngắn gọn, chuột cái C57BL/6 (7-10 tuần tuổi, Charles River) được chia ngẫu nhiên thành 8 nhóm, 8 chuột/nhóm và cho tiêm trong màng bụng 100µl hoặc dung dịch đệm xitrat (NaXitrat 20mM, NaCl 115mM, độ pH = 6,0) hoặc hợp chất thử nghiệm ở nồng độ mol tương đương lần lượt là 1,3, 0,4 và 0,13mg/kg so với 1, 3 và 0,1 mg/kg.

Một giờ sau khi dùng hợp chất thử nghiệm, chuột được gây mê bằng isofluran (Butler Schein) và cho tiêm trong da 20µl hoặc đối chứng BSA 0,1% (Sigma) hoặc 15µg/ml (0,3µg) rhIL23 (được tạo ra tại chỗ) pha loãng trong nước muối (Invitrogen) ở cả hai tai. Kích thích trong da được lặp lại mỗi ngày trong 2 ngày liên tiếp. 24 giờ sau lần kích thích thứ hai, chuột được cho chết bằng cách bằng cách làm gẫy cổ và lấy mẫu ở mỗi tai. Mô tai được đồng nhất trong 1ml dung dịch đệm đồng nhất (HBSS (Gibco); Triton X-100 0,4% (Sigma); 1X chất ức chế proteaza SigmaFast (Sigma)) bằng thiết bị đồng nhất MP Biomedicals Fast-Prep 24. Các mẫu đã đồng nhất được ly tâm ở 4^0C trong 10 phút và phần nổi bề mặt được thu lấy. Phần nổi bề mặt được kiểm tra sự có mặt của IL17A và IL22 của chuột, bằng thử nghiệm miễn dịch Quantikine® IL-17 và IL-22 của chuột theo hướng dẫn của nhà sản xuất (R&D Systems). Các giá trị xytokin pg/ml nội suy được xác định với mỗi mẫu. Mức pg/ml trung bình của mỗi nhóm xử lý được xác định và so sánh mức ý nghĩa với đối chứng được tính bởi kiểm định ANOVA một chiều sau đó là kiểm định đa so sánh Dunnett.

Kết quả

Các kết quả trong FIG.6 thể hiện rằng việc xử lý bằng một liều đơn trong màng bụng của Hợp chất B có thể ức chế đáng kể sự giải phóng IL17 và IL22 của người trong da do hai lần tiêm trong da liên tiếp mỗi ngày của IL23 người tái tổ hợp.

Trình tự

SEQ ID NO	**Trình tự**
1	QVQLQQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAP GQGLEWMGGIIPMFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMEL SSLRSEDTAVYYCARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSS

2	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEAD YYCSSRDSSGNHWVFGGGTELTVL
3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAP GQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSS
4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIK
5	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEAD YYCSSRDSSGNHWVFGGGTELTVLGGGSGGGGGQVQLVQSGA EVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYI YPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYIT REPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
6	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVK KPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAPGQGLEWMGGIIP MFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMELSSLRSEDTAVYY CARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG

	NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
7	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVK KPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAPGQGLEWMGGIIP MFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMELSSLRSEDTAVYY CARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYI TREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
8	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEAD YYCSSRDSSGNHWVFGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGA EVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYI YPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
9	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEAD YYCSSRDSSGNHWVFGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGA EVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYI YPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAV

	YYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGEVAACEKE VAALEKEVAALEKEVAALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G
10	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVK KPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAPGQGLEWMGGIIP MFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMELSSLRSEDTAVYY CARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGKVAACKE KVAALKEKVAALKEKVAALKE
11	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVK KPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAPGQGLEWMGGIIP MFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMELSSLRSEDTAVYY CARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGEVAACEK EVAALEKEVAALEKEVAALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG
12	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEAD

	YYCSSRDSSGNHWVFGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGA EVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYI YPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGKVAACKEK VAALKEKVAALKEKVAALKE
13	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEAD YYCSSRDSSGNHWVFGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGA EVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYI YPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVF PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVD KRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEV TCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSLG
14	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVK KPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAPGQGLEWMGGIIP MFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMELSSLRSEDTAVYY CARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD

	YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVK KPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAPGQGLEWMGGIIP MFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMELSSLRSEDTAVYY CARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSLGGGSGASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
16	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEAD YYCSSRDSSGNHWVFGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGA EVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYI YPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
17	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEAD YYCSSRDSSGNHWVFGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGA EVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYI YPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGEVAACEKE VAALEKEVAALEKEVAALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVF LFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS

	NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVK KPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAPGQGLEWMGGIIP MFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMELSSLRSEDTAVYY CARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGKVAACKE KVAALKEKVAALKEKVAALKE
19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLQQSGAEVK KPGSSVRVSCKASGGTFNNNAINWVRQAPGQGLEWMGGIIP MFGTAKYSQNFQGRVAITADESTGTASMELSSLRSEDTAVYY CARSRDLLLFPHHALSPWGRGTMVTVSSGGCGGGEVAACEK EVAALEKEVAALEKEVAALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
20	SSELTQDPAVSVALGQTVRVTCQGDSLRSYYASWYQQKPGQ APVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEAD YYCSSRDSSGNHWVFGGGTELTVLGGGSGGGGQVQLVQSGA EVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYI YPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGKVAACKEK VAALKEKVAALKEKVAALKE

21	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
22	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKA PKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYYC LQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDS PKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPD RSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
23	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSGGCGGGEVAACEKEVAALEKE VAALEKEVAALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP

	PKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
24	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKA PKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYYC LQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDS PKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPD RSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGKVAACKEKVAALKE KVAALKEKVAALKE
25	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLG
26	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKA PKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYYC LQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDS

	PKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPD RSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
27	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSGGCGGGEVAACEKEVAALEKE VAALEKEVAALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK DTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
28	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKA PKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYYC LQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDS PKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPD RSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGKVAACKEKVAALKE KVAALKEKVAALKE
29	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLAPSSKS

	TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
30	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLNWYQQKPGK APKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYY CLQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDD SPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIP DRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
31	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSGGCGGGEVAACEKEVAALEKE VAALEKEVAALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
32	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLNWYQQKPGK

	APKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYY CLQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDD SPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIP DRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGKVAACKEKVAALK EKVAALKEKVAALKE
33	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESK YGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLG
34	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLNWYQQKPGK APKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYY CLQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDD SPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIP DRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
35	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK

	VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSGGCGGGEVAACEKEVAALEKE VAALEKEVAALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK DTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
36	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLNWYQQKPGK APKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYY CLQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDD SPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIP DRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGKVAACKEKVAALK EKVAALKEKVAALKE
37	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQRPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

	ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
38	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADY YCLQYRSYPRTFGGGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
39	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQRPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSGGCGGGEVAACEKEVA ALEKEVAALEKEVAALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
40	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADY YCLQYRSYPRTFGGGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGKVAACKEKVAA LKEKVAALKEKVAALKE

41	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQRPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG
42	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADY YCLQYRSYPRTFGGGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
43	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQRPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSGGCGGGEVAACEKEVA ALEKEVAALEKEVAALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLF

	PPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
44	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADY YCLQYRSYPRTFGGGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGKVAACKEKVAA LKEKVAALKEKVAALKE
45	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK RVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
46	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQYRSYPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR

	DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
47	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSGGCGGGEVAACEKEVA ALEKEVAALEKEVAALEKLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQYRSYPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGKVAACKEKVAA LKEKVAALKEKVAALKE
49	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPL

	APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG
50	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQYRSYPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
51	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSGGCGGGEVAACEKEVA ALEKEVAALEKEVAALEKESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLF PPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
52	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK

	APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQYRSYPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSGGCGGGKVAACKEKVAA LKEKVAALKEKVAALKE
53	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKA PKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYYC LQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDS PKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPD RSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
54	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
55	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKA

	PKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYYC LQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPG SSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDS PKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPD RSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLG
56	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
57	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLNWYQQKPGK APKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYY CLQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDD SPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIP DRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP

	KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
58	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
59	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLNWYQQKPGK APKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYY CLQYASSPFTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDD SPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIP DRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE SKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLG
60	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK

	VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAPGQGLEWMGEIFP GSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CASGAFDYWGQGTTVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
61	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADY YCLQYRSYPRTFGGGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
62	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQRPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS

	SPVTKSFNRGEC
63	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADY YCLQYRSYPRTFGGGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG
64	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQRPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
65	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQYRSYPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLA

	PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
66	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
67	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQYRSYPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPR DDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTC VVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV

	MHEALHNHYTQKSLSLSLG
68	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGK VPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVAD YFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPNS GATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC
69	GGGSGGGG
70	LGGGSG
71	FNRGEC
72	VEPKSC
73	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
74	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLYITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW

	QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
75	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
76	EPKSCDKTHTCPPCP
77	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
78	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
79	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

80	MDDSTEREQSRLTSCLKKREEMKLKECVSILPRKESPSVRSSK DGKLLAATLLLALLSCCLTVVSFYQVAALQGDLASLRAELQG HHAEKLPAGAGAPKAGLEEAPAVTAGLKIFEPPAPGEGNSSQ NSRNKRAVQGPEETVTQDCLQLIADSETPTIQKGSYTFVPWLL SFKRGSALEEKENKILVKETGYFFIYGQVLYTDKTYAMGHLI QRKKVHVFGDELSLVTLFRCIQNMPETLPNNSCYSAGIAKLEE GDELQLAIPRENAQISLDGDVTFFGALKLL
81	MLGSRAVMLLLLLPWTAQGRAVPGGSSPAWTQCQQLSQKLC TLAWSAHPLVGHMDLREEGDEETTNDVPHIQCGDGCDPQGL RDNSQFCLQRIHQGLIFYEKLLGSDIFTGEPSLLPDSPVGQLHA SLLGLSQLLQPEGHHWETQQIPSLSPSQPWQRLLLRFKILRSLQ AFVAVAARVFAHGAATLSP
82	GGCGGGEVAACEKEVAALEKEVAALEKEVAALEK
83	GGCGGGKVAACKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE
84	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAP GQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTTVTVSS
85	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLSWLQQEPGKA PKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYYC LQYASSPFTFGQGTKLEIK
86	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAPDHIFSIHWMQWVRQAP GQGLEWMGEIFPGSGTTDYNEKFKGKVTITVDKSTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCASGAFDYWGQGTTVTVSS
87	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGNRLNWYQQKPGK APKRLIYATSSLDSGVPSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFVTYY CLQYASSPFTFGQGTKLEIK
88	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQRPG QGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESKVTLTRDTSISTAYMELSR

	LRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSS
89	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADY YCLQYRSYPRTFGGGTKLEIK
90	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSTFFIHWVRQAPG QGLEWIGRIDPNSGATKYNEKFESRVTMTRDTSISTAYMELSR LRSDDTAVYYCARGEDLLIRTDALDYWGQGTSVTVSS
91	DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQNAGIDVAWFQQKPGK APKLLIYSKSNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQYRSYPRTFGQGTKLEIK
92	GGTFNNNAIN
93	GIIPMFGTAKYSQNFQG
94	SRDLLLFPHHALSP
95	QGDSLRSYYAS
96	GKNNRPS
97	SSRDSSGNHWV
98	GYTFTDQTIH
99	YIYPRDDSPKYNENFKG
100	PDRSGYAWFIY
101	KASRDVAIAVA
102	WASTRHT
103	HQYSSYPFT
104	DHIFSIHWMQ
105	EIFPGSGTTDYNEKFKG
106	GAFDY

107	RASQDIGNRLS
108	ATSSLDS
109	LQYASSPFT
110	DHIFSIHWMQ
111	EIFPGSGTTDYNEKFKG
112	GAFDY
113	RASQDIGNRLN
114	ATSSLDS
115	GYSFSTFFIH
116	RIDPNSGATKYNEKFES
117	GEDLLIRTDALDY
118	KASQNAGIDVA
119	SKSNRYT
120	LQYRSYPRT
121	GYSFSTFFIH
122	GRIDPNSGATKYNEKFES
123	GEDLLIRTDALDY
124	KASQNAGIDVA
125	SKSNRYT
126	LQYRSYPRT
127	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM

	HEALHNHYTQKSLSLSLG
128	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
129	LEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
130	LEPKSSDKTHTCPPCP
131	GCKWDLLIKQWVCDPLGSGSATGGSGSTASSGSGSATHMLP GCKWDLLIKQWVCDPLGGGGGVDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
132	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPP GKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCARGYYDILTGYYYYFDYWGQGTLVTVSS
133	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQA PRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDSTLTISSLEPEDFAVYY CQQRSNWPRTFGQGTKVEIK

134	ESKYGPPCPPCP
135	GGCGGG
136	LGGCGGGS

Các phương án khác

Tất cả các đặc điểm bộc lộ trong phần mô tả có thể được kết hợp theo cách bất kỳ. Mỗi đặc điểm bộc lộ trong bản mô tả có thể được thay thế bởi đặc điểm khác mà có mục đích tương tự hoặc tương đương. Do đó, trừ khi có quy định khác mỗi đặc điểm bộc lộ chỉ là ví dụ cho một loạt các đặc điểm tương tự hoặc tương đương.

Từ phần mô tả trên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định được đặc điểm cơ bản của sáng chế, và không vượt quá phạm vi và tinh thần của sáng chế, có thể có các thay đổi và điều chỉnh khác nhau so với bản mô tả để làm phù hợp với các ứng dụng và điều kiện khác nhau. Do đó, các phương án khác cũng nằm trong phạm vi bảo hộ của sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất bao gồm polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai, trong đó:

(A) polypeptit thứ nhất đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai; và

(iii) vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3); và

(B) polypeptit thứ hai đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

trong đó:

(a) VL1 và VH1 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất;

(b) VL2 và VH2 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ hai;

(c) vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm tyrosin ở vị trí 252, threonin ở vị trí 254 và axit glutamic ở vị trí 256, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat cho CH2 của kháng thể thông thường; và

(d) protein đích thứ nhất đã nêu là yếu tố hoạt hóa tế bào B (B-cell activating factor – BAFF) và protein đích thứ hai đã nêu là Interleukin 23A (IL-23A) hoặc protein đích thứ nhất là IL-23A và protein đích thứ hai là BAFF,

và trong đó:

(i) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:2, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:1, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3; hoặc

(ii) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:2 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:1; hoặc

(iii) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:89, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:88, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3; hoặc

(iv) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:89 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:88; hoặc

(v) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:91, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:90, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3; hoặc

(vi) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:91 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:90.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó polypeptit thứ nhất còn bao gồm cầu nối thứ nhất giữa VL1 và VH2 và polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ hai giữa VL2 và VH1.

3. Hợp chất theo điểm 2, trong đó cầu nối thứ nhất hoặc cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).

4. Hợp chất theo điểm 2, trong đó cầu nối thứ nhất và cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin GGGSGGGG (SEQ ID NO:69).

5. Hợp chất theo điểm 1, trong đó polypeptit thứ nhất còn bao gồm vùng chức năng trong vùng cố định chuỗi nặng 1 (CH1) và polypeptit thứ hai đã nêu còn bao gồm vùng chức năng trong vùng cố định chuỗi nhẹ (CL), trong đó CL và CH1 được kết hợp với nhau qua liên kết disulfua để tạo ra vùng chức năng C1.

6. Hợp chất theo điểm 5, trong đó polypeptit thứ nhất còn bao gồm cầu nối thứ ba giữa VH2 và CH1 và polypeptit thứ hai còn bao gồm cầu nối thứ tư giữa VH1 và CL.

7. Hợp chất theo điểm 6, trong đó cầu nối thứ ba hoặc cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin LGGGSG (SEQ ID NO:70).

8. Hợp chất theo điểm 6, trong đó cầu nối thứ ba và cầu nối thứ tư bao gồm trình tự axit amin LGGGSG (SEQ ID NO:70).

9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm alanin ở vị trí 234 và alanin ở vị trí 235, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat cho CH2 của kháng thể thông thường.

10. Hợp chất theo điểm 1, trong đó trình tự axit amin của vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) hoặc vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3) có nguồn gốc từ IgG1 hoặc từ IgG4.

11. Hợp chất theo điểm 1, trong đó vùng bản lề bao gồm trình tự axit amin EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:76), trình tự axit amin LEPKSSDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:130) hoặc trình tự axit amin ESKYGPPCPPCP (SEQ ID NO:134).

12. Hợp chất theo điểm 1, trong đó:

(i) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:6; hoặc

(ii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:7 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:8; hoặc

(iii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:9 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:10; hoặc

(iv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:11 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:12; hoặc

(v) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:13 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:14; hoặc

(vi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:15 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:16; hoặc

(vii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:17 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:18; hoặc

(viii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:19 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:20; hoặc

(ix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:37 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:38; hoặc

(x) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:39 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:40; hoặc

(xi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:41 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:42; hoặc

(xii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:43 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:44; hoặc

(xiii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:45 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:46; hoặc

(xiv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:47 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:48; hoặc

(xv) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:49 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:50; hoặc

(xvi) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:51 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:52; hoặc

(xvii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:61 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:62; hoặc

(xviii) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:63 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:64; hoặc

(xix) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:65 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:66; hoặc

(xx) polypeptit thứ nhất bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:67 và polypeptit thứ hai bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:68.

13. Dược phẩm bao gồm hợp chất theo điểm 1.

14. Hợp chất bao gồm hai polypeptit thứ nhất và hai polypeptit thứ hai;

trong đó hai polypeptit thứ nhất kết hợp với nhau qua ít nhất một liên kết disulfua và trong đó từng polypeptit thứ nhất được kết hợp với một polypeptit thứ hai qua ít nhất một liên kết disulfua;

trong đó từng polypeptit thứ nhất trong số các polypeptit thứ nhất đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai;

(iii) vùng cố định chuỗi nặng 1 (CH1), vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3); và

trong đó từng polypeptit thứ hai đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(iii) vùng chức năng trong vùng cố định chuỗi nhẹ (CL)

trong đó vùng bản lề, CH2 và CH3 của một trong số các polypeptit thứ nhất kết hợp với vùng bản lề, CH2 và CH3 của polypeptit thứ nhất còn lại trong số các polypeptit thứ thứ nhất và CH1 của từng polypeptit thứ nhất kết hợp với CL của từng polypeptit thứ hai để tạo ra phân tử có hóa trị bốn.

trong đó:

a) VL1 và VH1 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất;

b) VL2 và VH2 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích

thứ hai;

c) vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm tyrosin ở vị trí 252, threonin ở vị trí 254 và axit glutamic ở vị trí 256, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat cho CH2 của kháng thể thông thường; và

d) protein đích thứ nhất đã nêu là yếu tố hoạt hóa tế bào B (B-cell activating factor – BAFF) và protein đích thứ hai đã nêu là Interleukin 23A (IL-23A) hoặc protein đích thứ nhất là IL-23A và protein đích thứ hai là BAFF,

và trong đó:

(i) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:2, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:1, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3; hoặc

(ii) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:2 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:1; hoặc

(iii) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:89, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:88, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3; hoặc

(iv) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:89 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:88; hoặc

(v) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:91, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:90, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3; hoặc

(vi) VL1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4, VH1 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3, VL2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:91 và VH2 bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:90.

15. Hợp chất bao gồm polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai, trong đó:

(A) polypeptit thứ nhất đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai; và

(iii) vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3); và

(B) polypeptit thứ hai đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

trong đó:

a) VL1 và VH1 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất;

b) VL2 và VH2 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ hai;

c) vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm tyrosin ở vị trí 252, threonin ở vị trí 254 và axit glutamic ở vị trí 256, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat cho CH2 của kháng thể thông thường; và

d) protein đích thứ nhất đã nêu là yếu tố hoạt hóa tế bào B (B-cell activating factor – BAFF) và protein đích thứ hai đã nêu là Interleukin 23A (IL-23A) hoặc protein đích thứ nhất đã nêu là IL-23A và protein đích thứ hai đã nêu là BAFF,

và trong đó:

(i) polypeptit thứ nhất đã nêu bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:61 và polypeptit thứ hai đã nêu bao gồm trình tự axit amin SEQ

ID NO:62.

16. Hợp chất bao gồm polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai, trong đó:

(A) polypeptit thứ nhất đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai; và

(iii) vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3); và

(B) polypeptit thứ hai đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

trong đó:

a) VL1 và VH1 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất;

b) VL2 và VH2 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ hai;

c) vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm tyrosin ở vị trí 252, threonin ở vị trí 254 và axit glutamic ở vị trí 256, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat cho CH2 của kháng thể thông thường; và

d) protein đích thứ nhất đã nêu là yếu tố hoạt hóa tế bào B (B-cell activating factor – BAFF) và protein đích thứ hai đã nêu là Interleukin 23A (IL-23A) hoặc protein đích thứ nhất đã nêu là IL-23A và protein đích thứ hai đã nêu là BAFF,

và trong đó:

(i) polypeptit thứ nhất đã nêu bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:49 và polypeptit thứ hai đã nêu bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:50.

17. Hợp chất bao gồm polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai, trong đó:

(A) polypeptit thứ nhất đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai; và

(iii) vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3); và

(B) polypeptit thứ hai đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

trong đó:

a) VL1 và VH1 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất;

b) VL2 và VH2 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ hai;

c) vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm tyrosin ở vị trí 252, threonin ở vị trí 254 và axit glutamic ở vị trí 256, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat cho CH2 của kháng thể thông thường; và

d) protein đích thứ nhất đã nêu là yếu tố hoạt hóa tế bào B (B-cell

activating factor – BAFF) và protein đích thứ hai đã nêu là Interleukin 23A (IL-23A) hoặc protein đích thứ nhất đã nêu là IL-23A và protein đích thứ hai đã nêu là BAFF,

và trong đó:

(i) VL1 đã nêu bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:4, VH1 đã nêu bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:3, VL2 đã nêu bao gồm trình tự axit amin SEQ IDNO:91 và VH2 đã nêu bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:90.

18. Hợp chất bao gồm polypeptit thứ nhất và polypeptit thứ hai, trong đó:

(A) polypeptit thứ nhất đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ nhất (VL1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ hai (VH2) đặc hiệu với protein đích thứ hai; và

(iii) vùng bản lề, vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) và vùng cố định chuỗi nặng 3 (CH3); và

(B) polypeptit thứ hai đã nêu bao gồm:

(i) vùng chức năng biến đổi chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch thứ hai (VL2) đặc hiệu với protein đích thứ hai;

(ii) vùng chức năng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch thứ nhất (VH1) đặc hiệu với protein đích thứ nhất;

trong đó:

a) VL1 và VH1 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ nhất;

b) VL2 và VH2 kết hợp để tạo ra vị trí gắn kết mà gắn kết protein đích thứ hai;

c) vùng cố định chuỗi nặng 2 (CH2) bao gồm tyrosin ở vị trí 252,

threonin ở vị trí 254 và axit glutamic ở vị trí 256, được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat cho CH2 của kháng thể thông thường; và

d) protein đích thứ nhất đã nêu là yếu tố hoạt hóa tế bào B (B-cell activating factor – BAFF) và protein đích thứ hai đã nêu là Interleukin 23A (IL-23A) hoặc protein đích thứ nhất đã nêu là IL-23A và protein đích thứ hai đã nêu là BAFF,

và trong đó:

(i) polypeptit thứ nhất đã nêu bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:11 và polypeptit thứ hai đã nêu bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:12.

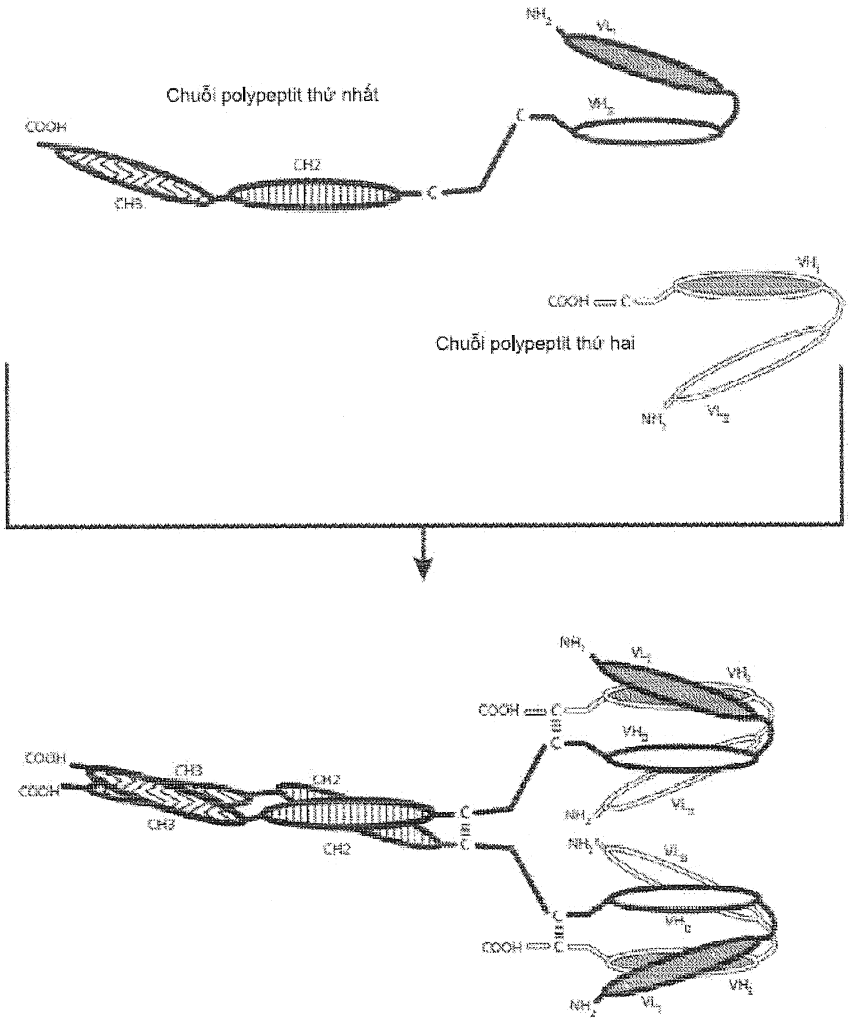


FIG. 1A

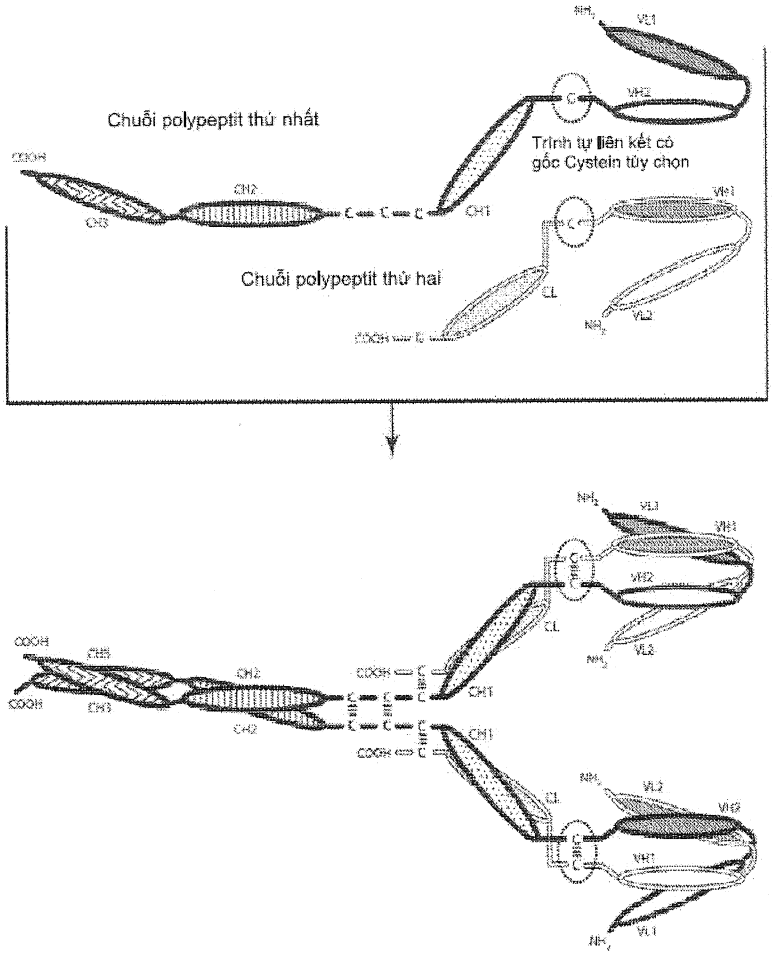

Chuỗi polypeptit thứ nhất
Trình tự liên kết có gốc Cystein tùy chọn
Chuỗi polypeptit thứ hai

FIG. 1B

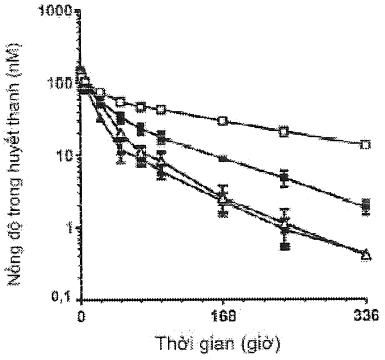

1000
100
10
1
0,1
Nồng độ trong huyết thanh (nM)
0
168
336
Thời gian (giờ)

FIG. 2

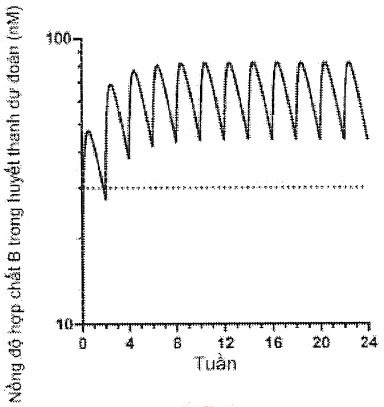

100
10
Nồng độ hợp chất B trong huyết thanh dự đoán (nM)
0
4
8
12
16
20
24
Tuần

FIG. 3

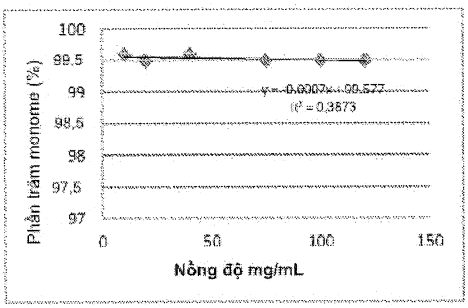
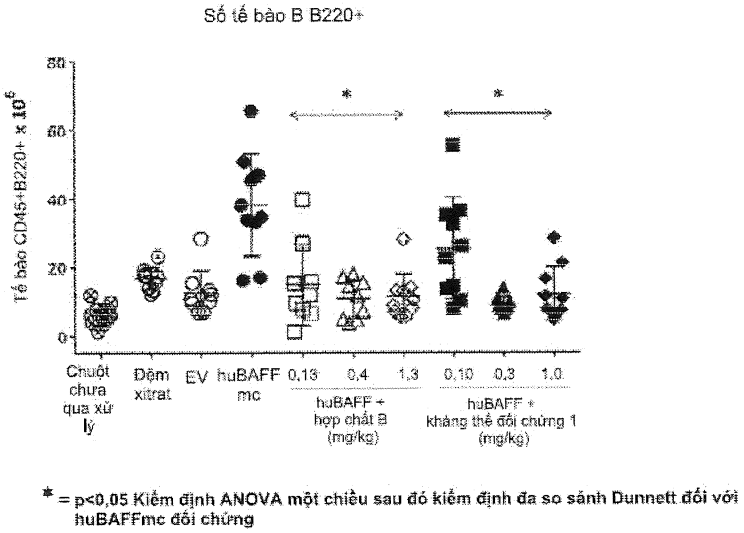
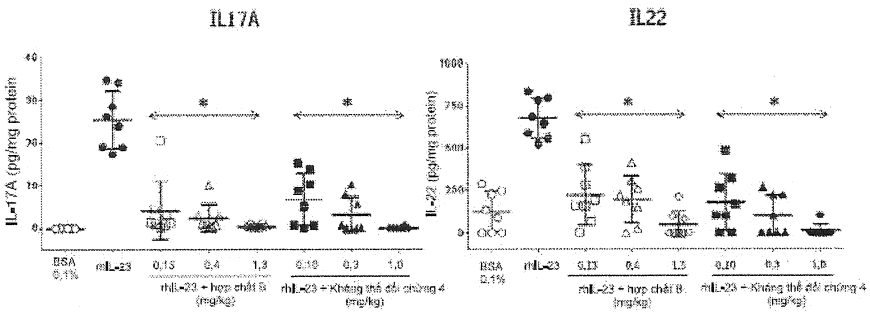


FIG. 4



* = p<0,05 Kiểm định ANOVA một chiều sau đó kiểm định đa so sánh Dunnett đối với huBAFFmc đối chứng

FIG. 5



*= p<0,05 Kiểm định ANOVA một chiều sau đó kiểm định đa so sánh Dunnett đối với rhIL-23 đối chứng

FIG. 6

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Boehringer Ingelheim International GmbH
MacroGenics, Inc.

<120> HỢP CHẤT BAO GỒM POLYPEPTIT GẮN ĐÍCH IL-23A VÀ YẾU TỐ HOẠT HÓA TẾ BÀO B (BAFF), DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

<130> B1204.70008WO00

<140> Chưa được chuyển nhượng
<141> Đồng thời cùng với

<150> US 62/196,170
<151> 23-07-2015

<150> US 62/201,067
<151> 04-08-2015

<150> US 62/355,302
<151> 27-06-2016

<160> 136

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 1

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Ser Arg Asp Leu Leu Leu Phe Pro His His Ala Leu Ser Pro
100 105 110

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

<210> 2
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 2

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

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

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

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

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

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

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 3
<211> 120

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 3

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

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

Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 4
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 4

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 5
<211> 571
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 5

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
        115                 120                 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
    130                 135                 140

Phe Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145                 150                 155                 160

Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr
                165                 170                 175

Asn Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
            180                 185                 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
        195                 200                 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile
    210                 215                 220

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240

Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
                245                 250                 255

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
            260                 265                 270

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
        275                 280                 285

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
    290                 295                 300
```

```
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
305                 310                 315                 320

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
                325                 330                 335

Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
            340                 345                 350

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
        355                 360                 365

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val
    370                 375                 380

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
385                 390                 395                 400

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
                405                 410                 415

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
            420                 425                 430

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
        435                 440                 445

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
    450                 455                 460

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
465                 470                 475                 480

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
                485                 490                 495

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
            500                 505                 510
```

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
515 520 525

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
530 535 540

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
545 550 555 560

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
565 570

<210> 6
<211> 351
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 6

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

```
Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe
    130                 135                 140

Asn Asn Asn Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala Lys Tyr Ser
                165                 170                 175

Gln Asn Phe Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Gly
            180                 185                 190

Thr Ala Ser Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Arg Asp Leu Leu Leu Phe Pro His His Ala
    210                 215                 220

Leu Ser Pro Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Leu Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
                245                 250                 255

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

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
        275                 280                 285

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
    290                 295                 300

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
305                 310                 315                 320

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
                325                 330                 335
```

```
Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340                 345                 350


<210>  7
<211>  573
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo

<220>
<223>  Polypeptit tổng hợp

<400>  7

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


Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30


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


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


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


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


Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110


Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125


Pro Gly Ser Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe
    130                 135                 140


Asn Asn Asn Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160
```

```
Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala Lys Tyr Ser
                165                 170                 175

Gln Asn Phe Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Gly
            180                 185                 190

Thr Ala Ser Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Arg Asp Leu Leu Leu Phe Pro His His Ala
    210                 215                 220

Leu Ser Pro Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Leu Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
                245                 250                 255

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
            260                 265                 270

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
        275                 280                 285

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
    290                 295                 300

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
305                 310                 315                 320

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
                325                 330                 335

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
            340                 345                 350

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
        355                 360                 365
```

```
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro
    370                 375                 380

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
385                 390                 395                 400

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
                405                 410                 415

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
            420                 425                 430

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
        435                 440                 445

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
    450                 455                 460

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
465                 470                 475                 480

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
                485                 490                 495

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
            500                 505                 510

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
        515                 520                 525

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
    530                 535                 540

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
545                 550                 555                 560

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                565                 570
```

<210> 8
<211> 349

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 8

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
115 120 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
130 135 140

Phe Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145 150 155 160

Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr
165 170 175

Asn Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
180 185 190

```
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
        195                 200                 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile
    210                 215                 220

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240

Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
                245                 250                 255

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

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
        275                 280                 285

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
    290                 295                 300

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
305                 310                 315                 320

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
                325                 330                 335

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340                 345
```

<210> 9
<211> 502
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 9

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
        115                 120                 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
    130                 135                 140

Phe Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145                 150                 155                 160

Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr
                165                 170                 175

Asn Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
            180                 185                 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
        195                 200                 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile
    210                 215                 220
```

```
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
                245                 250                 255

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Leu Glu
            260                 265                 270

Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
        275                 280                 285

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
    290                 295                 300

Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
305                 310                 315                 320

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
                325                 330                 335

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
            340                 345                 350

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
        355                 360                 365

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
    370                 375                 380

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
385                 390                 395                 400

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
                405                 410                 415

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
            420                 425                 430

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
        435                 440                 445
```

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
450 455 460

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
465 470 475 480

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
485 490 495

Leu Ser Leu Ser Pro Gly
500

<210> 10
<211> 272
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 10

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

```
Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe
    130                 135                 140

Asn Asn Asn Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala Lys Tyr Ser
                165                 170                 175

Gln Asn Phe Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Gly
            180                 185                 190

Thr Ala Ser Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Arg Asp Leu Leu Leu Phe Pro His His Ala
    210                 215                 220

Leu Ser Pro Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Cys Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
                245                 250                 255

Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
            260                 265                 270
```

<210> 11
<211> 504
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 11

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

```
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe
    130                 135                 140

Asn Asn Asn Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala Lys Tyr Ser
                165                 170                 175

Gln Asn Phe Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Gly
            180                 185                 190

Thr Ala Ser Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Arg Asp Leu Leu Leu Phe Pro His His Ala
    210                 215                 220
```

```
Leu Ser Pro Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
                245                 250                 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
            260                 265                 270

Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
        275                 280                 285

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
    290                 295                 300

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
305                 310                 315                 320

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
                325                 330                 335

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
            340                 345                 350

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
        355                 360                 365

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
    370                 375                 380

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
385                 390                 395                 400

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
                405                 410                 415

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
            420                 425                 430

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
        435                 440                 445
```

```
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
    450                 455                 460

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
465                 470                 475                 480

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
                485                 490                 495

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
            500
```

<210> 12
<211> 270
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 12

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

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

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

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

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

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

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110
```

```
Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
        115                 120                 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
    130                 135                 140

Phe Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145                 150                 155                 160

Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr
                165                 170                 175

Asn Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
            180                 185                 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
        195                 200                 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile
    210                 215                 220

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
                245                 250                 255

Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
            260                 265                 270
```

<210> 13
<211> 568
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 13

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
        115                 120                 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
    130                 135                 140

Phe Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145                 150                 155                 160

Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr
                165                 170                 175

Asn Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
            180                 185                 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
        195                 200                 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile
    210                 215                 220
```

```
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240

Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys
                245                 250                 255

Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
            260                 265                 270

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
        275                 280                 285

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
    290                 295                 300

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
305                 310                 315                 320

Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
                325                 330                 335

Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
            340                 345                 350

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        355                 360                 365

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
    370                 375                 380

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
385                 390                 395                 400

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
                405                 410                 415

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            420                 425                 430

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        435                 440                 445
```

```
Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    450                 455                 460

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
465                 470                 475                 480

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                485                 490                 495

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
            500                 505                 510

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
        515                 520                 525

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
    530                 535                 540

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
545                 550                 555                 560

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
                565
```

<210> 14
<211> 351
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 14

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

```
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe
    130                 135                 140

Asn Asn Asn Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala Lys Tyr Ser
                165                 170                 175

Gln Asn Phe Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Gly
            180                 185                 190

Thr Ala Ser Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Arg Asp Leu Leu Leu Phe Pro His His Ala
    210                 215                 220

Leu Ser Pro Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Leu Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro
                245                 250                 255
```

```
Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
            260                 265                 270

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp
        275                 280                 285

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp
    290                 295                 300

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys
305                 310                 315                 320

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
                325                 330                 335

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340                 345                 350
```

<210> 15
<211> 570
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 15

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe
    130                 135                 140

Asn Asn Asn Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala Lys Tyr Ser
                165                 170                 175

Gln Asn Phe Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Gly
            180                 185                 190

Thr Ala Ser Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Arg Asp Leu Leu Leu Phe Pro His His Ala
    210                 215                 220

Leu Ser Pro Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Leu Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
                245                 250                 255

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
            260                 265                 270

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
        275                 280                 285

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
    290                 295                 300
```

```
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
305                 310                 315                 320

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
                325                 330                 335

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
            340                 345                 350

Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
        355                 360                 365

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr
    370                 375                 380

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
385                 390                 395                 400

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
                405                 410                 415

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
            420                 425                 430

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
        435                 440                 445

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
    450                 455                 460

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
465                 470                 475                 480

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
                485                 490                 495

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
            500                 505                 510
```

```
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
        515                 520                 525

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
    530                 535                 540

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545                 550                 555                 560

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
                565                 570
```

<210> 16
<211> 349
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 16

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

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

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

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

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

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

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110
```

```
Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
        115                 120                 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
    130                 135                 140

Phe Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145                 150                 155                 160

Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr
                165                 170                 175

Asn Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
            180                 185                 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
        195                 200                 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile
    210                 215                 220

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240

Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
                245                 250                 255

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

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
        275                 280                 285

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
    290                 295                 300

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
305                 310                 315                 320

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
                325                 330                 335
```

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
340 345

<210> 17
<211> 498
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 17

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
115 120 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
130 135 140

Phe Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145 150 155 160

```
Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr
                165                 170                 175

Asn Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
            180                 185                 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
        195                 200                 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile
    210                 215                 220

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
                245                 250                 255

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Ser
            260                 265                 270

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
        275                 280                 285

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

Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
305                 310                 315                 320

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
                325                 330                 335

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

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
        355                 360                 365
```

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
370 375 380

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
385 390 395 400

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
405 410 415

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
420 425 430

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
435 440 445

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
450 455 460

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
465 470 475 480

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
485 490 495

Leu Gly

<210> 18
<211> 272
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 18

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe
    130                 135                 140

Asn Asn Asn Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala Lys Tyr Ser
                165                 170                 175

Gln Asn Phe Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Gly
            180                 185                 190

Thr Ala Ser Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Arg Asp Leu Leu Leu Phe Pro His His Ala
    210                 215                 220

Leu Ser Pro Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Cys Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
                245                 250                 255
```

Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265 270

<210> 19
<211> 500
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 19

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Arg Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe
130 135 140

Asn Asn Asn Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

```
Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala Lys Tyr Ser
                165                 170                 175

Gln Asn Phe Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Gly
            180                 185                 190

Thr Ala Ser Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Arg Asp Leu Leu Leu Phe Pro His His Ala
    210                 215                 220

Leu Ser Pro Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
                245                 250                 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
            260                 265                 270

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
        275                 280                 285

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

Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
305                 310                 315                 320

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
                325                 330                 335

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
            340                 345                 350

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
        355                 360                 365
```

```
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
    370                 375                 380

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
385                 390                 395                 400

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
                405                 410                 415

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
            420                 425                 430

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
        435                 440                 445

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
    450                 455                 460

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
465                 470                 475                 480

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
                485                 490                 495

Leu Ser Leu Gly
            500
```

<210> 20
<211> 270
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 20

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
        115                 120                 125

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
    130                 135                 140

Phe Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
145                 150                 155                 160

Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr
                165                 170                 175

Asn Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
            180                 185                 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
        195                 200                 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile
    210                 215                 220

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
                245                 250                 255
```

```
Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
            260                 265                 270


<210>  21
<211>  564
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo

<220>
<223>  Polypeptit tổng hợp

<400>  21

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


Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30


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


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


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


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


Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110


Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125


Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
    130                 135                 140


Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160
```

```
Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220

Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
            260                 265                 270

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
        275                 280                 285

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
    290                 295                 300

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
305                 310                 315                 320

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
                325                 330                 335

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
            340                 345                 350

Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
        355                 360                 365
```

```
Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
    370                 375                 380

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
385                 390                 395                 400

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
                405                 410                 415

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
            420                 425                 430

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
        435                 440                 445

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
    450                 455                 460

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
465                 470                 475                 480

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
                485                 490                 495

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
            500                 505                 510

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
        515                 520                 525

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
    530                 535                 540

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
545                 550                 555                 560

Leu Ser Pro Gly
```

<210> 22
<211> 348

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 22

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
130 135 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
165 170 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
180 185 190

```
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
            260                 265                 270

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
        275                 280                 285

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
305                 310                 315                 320

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340                 345
```

<210> 23
<211> 495
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 23

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

```
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
    130                 135                 140

Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220
```

```
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys
225                 230                 235                 240

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
                245                 250                 255

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
            260                 265                 270

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
        275                 280                 285

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg
    290                 295                 300

Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
305                 310                 315                 320

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
                325                 330                 335

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
            340                 345                 350

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
        355                 360                 365

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
    370                 375                 380

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
385                 390                 395                 400

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
                405                 410                 415

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
            420                 425                 430

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
        435                 440                 445
```

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
450 455 460

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
465 470 475 480

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
485 490 495

<210> 24
<211> 269
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 24

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

```
Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys
                245                 250                 255

Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
            260                 265
```

<210> 25
<211> 561
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 25

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30
```

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
    130                 135                 140

Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220

Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly
225                 230                 235                 240
```

```
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
                245                 250                 255

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
            260                 265                 270

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
        275                 280                 285

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
    290                 295                 300

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
305                 310                 315                 320

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
                325                 330                 335

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
            340                 345                 350

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile
        355                 360                 365

Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
    370                 375                 380

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
385                 390                 395                 400

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
                405                 410                 415

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
            420                 425                 430

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
        435                 440                 445

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
    450                 455                 460
```

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
465 470 475 480

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
485 490 495

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
500 505 510

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
515 520 525

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
530 535 540

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
545 550 555 560

Gly

<210> 26
<211> 348
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 26

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
            260                 265                 270
```

```
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
        275                 280                 285

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
305                 310                 315                 320

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340                 345
```

<210> 27
<211> 491
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 27

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

```
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
    130                 135                 140

Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys
225                 230                 235                 240

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
                245                 250                 255

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

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
        275                 280                 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val
    290                 295                 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
305                 310                 315                 320
```

```
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
                325                 330                 335

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
            340                 345                 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
        355                 360                 365

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
    370                 375                 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
385                 390                 395                 400

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
                405                 410                 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
            420                 425                 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
        435                 440                 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
    450                 455                 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465                 470                 475                 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
                485                 490
```

<210> 28
<211> 269
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 28

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205
```

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly
225 230 235 240

Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys
245 250 255

Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265

<210> 29
<211> 564
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 29

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

```
Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
    130                 135                 140

Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220

Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
            260                 265                 270

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
        275                 280                 285

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
    290                 295                 300

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
305                 310                 315                 320

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
                325                 330                 335
```

```
Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala
            340                 345                 350

Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
        355                 360                 365

Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
    370                 375                 380

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
385                 390                 395                 400

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
                405                 410                 415

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
            420                 425                 430

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
        435                 440                 445

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
    450                 455                 460

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
465                 470                 475                 480

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
                485                 490                 495

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
            500                 505                 510

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
        515                 520                 525

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
    530                 535                 540
```

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
545 550 555 560

Leu Ser Pro Gly

<210> 30
<211> 348
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 30

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
130 135 140

```
Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
            260                 265                 270

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
        275                 280                 285

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
305                 310                 315                 320

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340                 345
```

<210> 31
<211> 495

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 31

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
130 135 140

Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
165 170 175

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
180 185 190

```
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys
225                 230                 235                 240

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
                245                 250                 255

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
            260                 265                 270

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
        275                 280                 285

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg
    290                 295                 300

Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
305                 310                 315                 320

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
                325                 330                 335

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
            340                 345                 350

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
        355                 360                 365

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
    370                 375                 380

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
385                 390                 395                 400
```

```
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
                405                 410                 415

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
            420                 425                 430

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
        435                 440                 445

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
    450                 455                 460

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
465                 470                 475                 480

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                485                 490                 495
```

<210> 32
<211> 269
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 32

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys
                245                 250                 255

Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
            260                 265
```

<210> 33
<211> 561
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 33

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
130 135 140

Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
165 170 175

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
180 185 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
195 200 205

```
Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220

Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
                245                 250                 255

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
            260                 265                 270

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
        275                 280                 285

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
    290                 295                 300

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
305                 310                 315                 320

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
                325                 330                 335

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
            340                 345                 350

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile
        355                 360                 365

Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
    370                 375                 380

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
385                 390                 395                 400

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
                405                 410                 415
```

```
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
            420                 425                 430

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
        435                 440                 445

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
    450                 455                 460

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
465                 470                 475                 480

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
                485                 490                 495

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
            500                 505                 510

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
        515                 520                 525

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
    530                 535                 540

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
545                 550                 555                 560

Gly
```

<210> 34
<211> 348
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 34

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240
```

```
Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
            260                 265                 270

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
        275                 280                 285

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
305                 310                 315                 320

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340                 345
```

<210> 35
<211> 491
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 35

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
```

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
    130                 135                 140

Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys
225                 230                 235                 240

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
                245                 250                 255

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
            260                 265                 270
```

```
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
        275                 280                 285

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val
    290                 295                 300

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
305                 310                 315                 320

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
                325                 330                 335

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
            340                 345                 350

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
        355                 360                 365

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
    370                 375                 380

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
385                 390                 395                 400

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
                405                 410                 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
            420                 425                 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
        435                 440                 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
    450                 455                 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465                 470                 475                 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
                485                 490
```

<210> 36
<211> 269
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 36

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
130 135 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
165 170 175

```
Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys
                245                 250                 255

Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
            260                 265
```

<210> 37
<211> 572
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 37

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
    130                 135                 140

Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Glu Ser Lys Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
                245                 250                 255

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
            260                 265                 270

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
        275                 280                 285
```

```
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
    290                 295                 300

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
305                 310                 315                 320

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
                325                 330                 335

Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
            340                 345                 350

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
        355                 360                 365

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu
    370                 375                 380

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
385                 390                 395                 400

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
                405                 410                 415

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
            420                 425                 430

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
        435                 440                 445

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
    450                 455                 460

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
465                 470                 475                 480

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
                485                 490                 495

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
            500                 505                 510
```

```
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
        515                 520                 525

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
    530                 535                 540

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
545                 550                 555                 560

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                565                 570
```

<210> 38
<211> 348
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 38

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110
```

```
Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
            260                 265                 270

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
        275                 280                 285

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
305                 310                 315                 320
```

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
340 345

<210> 39
<211> 503
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 39

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
130 135 140

```
Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Glu Ser Lys Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
                245                 250                 255

Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Leu
            260                 265                 270

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
        275                 280                 285

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
    290                 295                 300

Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val
305                 310                 315                 320

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
                325                 330                 335

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
            340                 345                 350

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
        355                 360                 365
```

```
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
    370                 375                 380

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
385                 390                 395                 400

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
                405                 410                 415

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
            420                 425                 430

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
        435                 440                 445

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
    450                 455                 460

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
465                 470                 475                 480

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
                485                 490                 495

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
            500
```

<210> 40
<211> 269
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 40

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
```

Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys
245 250 255

Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265

<210> 41
<211> 569
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 41

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
130 135 140

```
Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Glu Ser Lys Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
                245                 250                 255

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
            260                 265                 270

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
        275                 280                 285

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
    290                 295                 300

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
305                 310                 315                 320

Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
                325                 330                 335

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
            340                 345                 350

Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        355                 360                 365
```

```
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys
    370                 375                 380

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
385                 390                 395                 400

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                405                 410                 415

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            420                 425                 430

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        435                 440                 445

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    450                 455                 460

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
465                 470                 475                 480

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                485                 490                 495

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            500                 505                 510

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        515                 520                 525

Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
    530                 535                 540

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
545                 550                 555                 560

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
                565
```

<210> 42
<211> 348
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 42

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
130 135 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
165 170 175

```
Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
            260                 265                 270

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
        275                 280                 285

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
305                 310                 315                 320

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340                 345
```

<210> 43
<211> 499
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 43

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
    130                 135                 140

Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Glu Ser Lys Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220
```

```
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
                245                 250                 255

Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu
            260                 265                 270

Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
        275                 280                 285

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

Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
305                 310                 315                 320

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
                325                 330                 335

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
            340                 345                 350

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
        355                 360                 365

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
    370                 375                 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
385                 390                 395                 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
                405                 410                 415

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
            420                 425                 430
```

```
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
        435                 440                 445

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
    450                 455                 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
465                 470                 475                 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
                485                 490                 495

Ser Leu Gly
```

<210> 44
<211> 269
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 44

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Arg Ser Tyr Pro Arg
                85                  90                  95
```

```
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys
                245                 250                 255

Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
            260                 265
```

<210> 45
<211> 572
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 45

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
    130                 135                 140

Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Glu Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220
```

```
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
                245                 250                 255

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
            260                 265                 270

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
        275                 280                 285

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
    290                 295                 300

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
305                 310                 315                 320

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
                325                 330                 335

Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
            340                 345                 350

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
        355                 360                 365

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu
    370                 375                 380

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
385                 390                 395                 400

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
                405                 410                 415

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
            420                 425                 430
```

```
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
        435                 440                 445

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
    450                 455                 460

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
465                 470                 475                 480

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
                485                 490                 495

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
            500                 505                 510

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
        515                 520                 525

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
    530                 535                 540

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
545                 550                 555                 560

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                565                 570
```

<210> 46
<211> 348
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 46

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
                245                 250                 255
```

```
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
            260                 265                 270

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
        275                 280                 285

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
305                 310                 315                 320

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340                 345
```

<210> 47
<211> 503
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 47

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
    130                 135                 140

Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Glu Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
                245                 250                 255

Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Leu
            260                 265                 270

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
        275                 280                 285
```

```
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
    290                 295                 300

Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val
305                 310                 315                 320

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
                325                 330                 335

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
            340                 345                 350

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
        355                 360                 365

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
    370                 375                 380

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
385                 390                 395                 400

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
                405                 410                 415

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
            420                 425                 430

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
        435                 440                 445

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
    450                 455                 460

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
465                 470                 475                 480

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
                485                 490                 495

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
            500
```

<210> 48
<211> 269
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 48

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
130 135 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
165 170 175

```
Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys
                245                 250                 255

Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
            260                 265
```

<210> 49
<211> 569
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 49

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
    130                 135                 140

Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Glu Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
                245                 250                 255

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
            260                 265                 270

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
        275                 280                 285
```

```
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
    290                 295                 300

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
305                 310                 315                 320

Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
                325                 330                 335

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
            340                 345                 350

Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        355                 360                 365

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys
    370                 375                 380

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
385                 390                 395                 400

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                405                 410                 415

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            420                 425                 430

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        435                 440                 445

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    450                 455                 460

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
465                 470                 475                 480

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                485                 490                 495

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            500                 505                 510
```

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
515 520 525

Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
530 535 540

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
545 550 555 560

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
565

<210> 50
<211> 348
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 50

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

```
Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
            260                 265                 270

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
        275                 280                 285

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
305                 310                 315                 320
```

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

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
340 345

<210> 51
<211> 499
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 51

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
130 135 140

```
Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Glu Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
                245                 250                 255

Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu
            260                 265                 270

Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
        275                 280                 285

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

Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
305                 310                 315                 320

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
                325                 330                 335

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
            340                 345                 350

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
        355                 360                 365
```

```
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
    370                 375                 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
385                 390                 395                 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
                405                 410                 415

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
            420                 425                 430

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
        435                 440                 445

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
    450                 455                 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
465                 470                 475                 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
                485                 490                 495

Ser Leu Gly
```

<210> 52
<211> 269
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 52

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
```

Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys
245 250 255

Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265

<210> 53
<211> 570
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 53

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
130 135 140

```
Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
                245                 250                 255

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            260                 265                 270

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        275                 280                 285

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
    290                 295                 300

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
305                 310                 315                 320

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
                325                 330                 335

Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
            340                 345                 350

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
        355                 360                 365
```

```
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr
    370                 375                 380

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385                 390                 395                 400

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
                405                 410                 415

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
            420                 425                 430

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
        435                 440                 445

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
    450                 455                 460

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465                 470                 475                 480

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
                485                 490                 495

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
            500                 505                 510

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
        515                 520                 525

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
    530                 535                 540

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545                 550                 555                 560

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                565                 570
```

<210> 54
<211> 342
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 54

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
130 135 140

Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
165 170 175

```
Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220

Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
                245                 250                 255

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
            260                 265                 270

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
        275                 280                 285

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
    290                 295                 300

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
305                 310                 315                 320

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
                325                 330                 335

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340
```

<210> 55
<211> 567
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 55

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220
```

```
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
                245                 250                 255

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            260                 265                 270

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        275                 280                 285

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
    290                 295                 300

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
305                 310                 315                 320

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
                325                 330                 335

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
            340                 345                 350

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
        355                 360                 365

Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val
    370                 375                 380

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
385                 390                 395                 400

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
                405                 410                 415

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
            420                 425                 430
```

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
435 440 445

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
450 455 460

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
465 470 475 480

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
485 490 495

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
500 505 510

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
515 520 525

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
530 535 540

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
545 550 555 560

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
565

<210> 56
<211> 342
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 56

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
    130                 135                 140

Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220

Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
                245                 250                 255
```

```
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
            260                 265                 270

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
        275                 280                 285

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
    290                 295                 300

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
305                 310                 315                 320

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
                325                 330                 335

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340
```

<210> 57
<211> 570
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 57

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
                245                 250                 255

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            260                 265                 270

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        275                 280                 285
```

```
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
    290                 295                 300

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
305                 310                 315                 320

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
                325                 330                 335

Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
            340                 345                 350

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
        355                 360                 365

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr
    370                 375                 380

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385                 390                 395                 400

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
                405                 410                 415

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
            420                 425                 430

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
        435                 440                 445

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
    450                 455                 460

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465                 470                 475                 480

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
                485                 490                 495

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
            500                 505                 510
```

```
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
        515                 520                 525

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
    530                 535                 540

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545                 550                 555                 560

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                565                 570
```

<210> 58
<211> 342
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 58

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110
```

```
Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
    130                 135                 140

Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220

Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
                245                 250                 255

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
            260                 265                 270

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
        275                 280                 285

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
    290                 295                 300

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
305                 310                 315                 320
```

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
325 330 335

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
340

<210> 59
<211> 567
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 59

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
130 135 140

```
Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
                245                 250                 255

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            260                 265                 270

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        275                 280                 285

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
    290                 295                 300

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
305                 310                 315                 320

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
                325                 330                 335

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
            340                 345                 350

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
        355                 360                 365
```

```
Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val
    370                 375                 380

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
385                 390                 395                 400

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
                405                 410                 415

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
            420                 425                 430

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
        435                 440                 445

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
    450                 455                 460

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
465                 470                 475                 480

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
                485                 490                 495

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
            500                 505                 510

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
        515                 520                 525

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
    530                 535                 540

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
545                 550                 555                 560

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
                565
```

<210> 60
<211> 342
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 60

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe
130 135 140

Ser Ile His Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Met Gly Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn
165 170 175

```
Glu Lys Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
    210                 215                 220

Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala
225                 230                 235                 240

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
                245                 250                 255

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
            260                 265                 270

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
        275                 280                 285

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
    290                 295                 300

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
305                 310                 315                 320

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
                325                 330                 335

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340
```

<210> 61
<211> 570
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 61

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220
```

```
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
                245                 250                 255

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            260                 265                 270

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        275                 280                 285

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
    290                 295                 300

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
305                 310                 315                 320

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
                325                 330                 335

Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
            340                 345                 350

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
        355                 360                 365

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr
    370                 375                 380

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385                 390                 395                 400

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
                405                 410                 415

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
            420                 425                 430
```

```
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
        435                 440                 445

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
    450                 455                 460

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465                 470                 475                 480

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
                485                 490                 495

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
            500                 505                 510

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
        515                 520                 525

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
    530                 535                 540

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545                 550                 555                 560

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                565                 570
```

<210> 62
<211> 350
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 62

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30
```

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
    130                 135                 140

Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Glu Ser Lys Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
                245                 250                 255
```

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

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
275 280 285

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
290 295 300

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
305 310 315 320

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
325 330 335

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

<210> 63
<211> 567
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 63

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

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

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

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

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

```
Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Arg Ser Tyr Pro Arg
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
                245                 250                 255

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            260                 265                 270

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        275                 280                 285
```

```
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
    290                 295                 300

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
305                 310                 315                 320

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
                325                 330                 335

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
            340                 345                 350

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
        355                 360                 365

Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val
    370                 375                 380

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
385                 390                 395                 400

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
                405                 410                 415

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
            420                 425                 430

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
        435                 440                 445

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
    450                 455                 460

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
465                 470                 475                 480

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
                485                 490                 495

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
            500                 505                 510
```

```
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
        515                 520                 525

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
    530                 535                 540

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
545                 550                 555                 560

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
                565
```

<210> 64
<211> 350
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 64

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110
```

```
Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
    130                 135                 140

Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Glu Ser Lys Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
                245                 250                 255

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

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
        275                 280                 285

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
    290                 295                 300

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
305                 310                 315                 320
```

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
325 330 335

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

<210> 65
<211> 570
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 65

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
130 135 140

```
Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
                245                 250                 255

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            260                 265                 270

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        275                 280                 285

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
    290                 295                 300

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
305                 310                 315                 320

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
                325                 330                 335

Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
            340                 345                 350

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
        355                 360                 365
```

```
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr
    370                 375                 380

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
385                 390                 395                 400

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
                405                 410                 415

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
            420                 425                 430

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
        435                 440                 445

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
    450                 455                 460

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
465                 470                 475                 480

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
                485                 490                 495

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
            500                 505                 510

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
        515                 520                 525

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
    530                 535                 540

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
545                 550                 555                 560

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                565                 570
```

<210> 66
<211> 350
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 66

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
130 135 140

Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
165 170 175

```
Glu Lys Phe Glu Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
                245                 250                 255

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

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
        275                 280                 285

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
    290                 295                 300

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
305                 310                 315                 320

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
                325                 330                 335

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
            340                 345                 350
```

<210> 67
<211> 567
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 67

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Asp Gln Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Asn Phe Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
    210                 215                 220
```

```
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
                245                 250                 255

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            260                 265                 270

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        275                 280                 285

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
    290                 295                 300

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
305                 310                 315                 320

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
                325                 330                 335

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
            340                 345                 350

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
        355                 360                 365

Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val
    370                 375                 380

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
385                 390                 395                 400

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
                405                 410                 415

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
            420                 425                 430
```

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
435 440 445

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
450 455 460

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
465 470 475 480

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
485 490 495

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
500 505 510

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
515 520 525

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
530 535 540

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
545 550 555 560

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
565

<210> 68
<211> 350
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 68

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
    130                 135                 140

Ser Thr Phe Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Lys Phe Glu Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu
    210                 215                 220

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gly Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
                245                 250                 255
```

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

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
275 280 285

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
290 295 300

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
305 310 315 320

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
325 330 335

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

<210> 69
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 69

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 70
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 70

Leu Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 71
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 71

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
1 5

<210> 72
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 72

Val Glu Pro Lys Ser Cys
1 5

<210> 73
<211> 326
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 73

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
        115                 120                 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
    130                 135                 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
                165                 170                 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
            180                 185                 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
        195                 200                 205

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

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
            260                 265                 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
        275                 280                 285
```

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
325

<210> 74
<211> 326
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 74

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

```
Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
    130                 135                 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
                165                 170                 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
            180                 185                 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
        195                 200                 205

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

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
                245                 250                 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
            260                 265                 270

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

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
    290                 295                 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305                 310                 315                 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
                325
```

<210> 75
<211> 329
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 75

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

```
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

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

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

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

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                325
```

<210> 76
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 76

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

<210> 77
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 77

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 78
<211> 330
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 78

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

```
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

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

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240
```

```
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

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

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325                 330
```

<210> 79
<211> 329
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 79

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                   10                  15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80
```

```
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

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

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

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

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300
```

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 80
<211> 285
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 80

Met Asp Asp Ser Thr Glu Arg Glu Gln Ser Arg Leu Thr Ser Cys Leu
1 5 10 15

Lys Lys Arg Glu Glu Met Lys Leu Lys Glu Cys Val Ser Ile Leu Pro
20 25 30

Arg Lys Glu Ser Pro Ser Val Arg Ser Ser Lys Asp Gly Lys Leu Leu
35 40 45

Ala Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Leu Ser Cys Cys Leu Thr Val Val
50 55 60

Ser Phe Tyr Gln Val Ala Ala Leu Gln Gly Asp Leu Ala Ser Leu Arg
65 70 75 80

Ala Glu Leu Gln Gly His His Ala Glu Lys Leu Pro Ala Gly Ala Gly
85 90 95

Ala Pro Lys Ala Gly Leu Glu Glu Ala Pro Ala Val Thr Ala Gly Leu
100 105 110

Lys Ile Phe Glu Pro Pro Ala Pro Gly Glu Gly Asn Ser Ser Gln Asn
115 120 125

Ser Arg Asn Lys Arg Ala Val Gln Gly Pro Glu Glu Thr Val Thr Gln
130 135 140

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

145 150 155 160

Gly Ser Tyr Thr Phe Val Pro Trp Leu Leu Ser Phe Lys Arg Gly Ser
165 170 175

Ala Leu Glu Glu Lys Glu Asn Lys Ile Leu Val Lys Glu Thr Gly Tyr
180 185 190

Phe Phe Ile Tyr Gly Gln Val Leu Tyr Thr Asp Lys Thr Tyr Ala Met
195 200 205

Gly His Leu Ile Gln Arg Lys Lys Val His Val Phe Gly Asp Glu Leu
210 215 220

Ser Leu Val Thr Leu Phe Arg Cys Ile Gln Asn Met Pro Glu Thr Leu
225 230 235 240

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

Asp Glu Leu Gln Leu Ala Ile Pro Arg Glu Asn Ala Gln Ile Ser Leu
260 265 270

Asp Gly Asp Val Thr Phe Phe Gly Ala Leu Lys Leu Leu
275 280 285

<210> 81
<211> 189
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 81

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

Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
20 25 30

Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
35 40 45

Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
50 55 60

Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
65 70 75 80

Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
85 90 95

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

Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Gly Gln Leu His Ala Ser Leu
115 120 125

Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr
130 135 140

Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu
145 150 155 160

Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala
165 170 175

Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
180 185

<210> 82
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 82

Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala
1 5 10 15

Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
20 25 30

Glu Lys

<210> 83
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 83

Gly Gly Cys Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala
1 5 10 15

Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
20 25 30

Lys Glu

<210> 84
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 84

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe Ser Ile His
20 25 30

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

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

Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 85
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 85

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

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

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

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

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

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

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

<210> 86
<211> 114

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 86

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Pro Asp His Ile Phe Ser Ile His
20 25 30

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

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

Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 87
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 87

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

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

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

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

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

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

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

<210> 88
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 88

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

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

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Glu Ser Lys Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 89
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 89

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

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

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

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

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

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

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

<210> 90
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 90

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

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

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 91
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 91

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

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

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

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

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

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

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

<210> 92
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 92

Gly Gly Thr Phe Asn Asn Asn Ala Ile Asn
1 5 10

<210> 93
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 93

Gly Ile Ile Pro Met Phe Gly Thr Ala Lys Tyr Ser Gln Asn Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 94
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 94

Ser Arg Asp Leu Leu Leu Phe Pro His His Ala Leu Ser Pro
1 5 10

<210> 95
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 95

Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser
1 5 10

<210> 96
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 96

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 97
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 97

Ser Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His Trp Val
1 5 10

<210> 98
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 98

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
1 5 10

<210> 99
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 99

Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 100
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 100

Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
1 5 10

<210> 101
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 101

Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala Val Ala
1 5 10

<210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 102

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 103

His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 104
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 104

Asp His Ile Phe Ser Ile His Trp Met Gln
1 5 10

<210> 105
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 105

Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 106
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 106

Gly Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 107
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 107

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Arg Leu Ser
1 5 10

<210> 108
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 108

Ala Thr Ser Ser Leu Asp Ser
1 5

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 109

Leu Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Phe Thr
1 5

<210> 110
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 110

Asp His Ile Phe Ser Ile His Trp Met Gln
1 5 10

<210> 111
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 111

Glu Ile Phe Pro Gly Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 112
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 112

Gly Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 113
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 113

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Arg Leu Asn
1 5 10

<210> 114
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 114

Ala Thr Ser Ser Leu Asp Ser
1 5

<210> 115
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 115

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

<210> 116
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 116

Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Glu
1 5 10 15

Ser

<210> 117
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 117

Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 118
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 118

Lys Ala Ser Gln Asn Ala Gly Ile Asp Val Ala
1 5 10

<210> 119
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 119

Ser Lys Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5

<210> 120
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 120

Leu Gln Tyr Arg Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5

<210> 121
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 121

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

<210> 122
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 122

Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ala Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
1 5 10 15

Glu Ser

<210> 123
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 123

Gly Glu Asp Leu Leu Ile Arg Thr Asp Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 124
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 124

Lys Ala Ser Gln Asn Ala Gly Ile Asp Val Ala
1 5 10

<210> 125
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 125

Ser Lys Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5

<210> 126
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 126

Leu Gln Tyr Arg Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5

<210> 127
<211> 228
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 127

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110

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

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

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

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

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

Leu Ser Leu Gly
225

<210> 128
<211> 329
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 128

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

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

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

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

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 129
<211> 232

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 129

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
225 230

<210> 130
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 130

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

<210> 131
<211> 290
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 131

Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
1 5 10 15

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Gly Ser Ala Thr His Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu
35 40 45

Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp
50 55 60

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
65 70 75 80

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
85 90 95

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
100 105 110

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
115 120 125

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
130 135 140

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
145 150 155 160

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
165 170 175

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
180 185 190

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
210 215 220

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

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
245 250 255

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
260 265 270

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
275 280 285

Gly Lys
290

<210> 132
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 132

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

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

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

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

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

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

Arg Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 133
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 133

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Ser Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

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

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

<210> 134
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 134

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 135
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 135

Gly Gly Cys Gly Gly Gly
1 5

<210> 136
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit tổng hợp

<400> 136

Leu Gly Gly Cys Gly Gly Gly Ser
1 5