



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

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

(11)



1-0033462

(51)⁷ C07K 14/605; A61K 38/26; A61P 3/04 (13) B

(21) 1-2013-03868

(22) 07/06/2012

(86) PCT/KR2012/004494 07/06/2012

(87) WO2012/169798 13/12/2012

(30) 10-2011-0056472 10/06/2011 KR

(45) 25/10/2022 415

(43) 26/05/2014 314A

(73) HANMI SCIENCE CO., LTD. (KR)

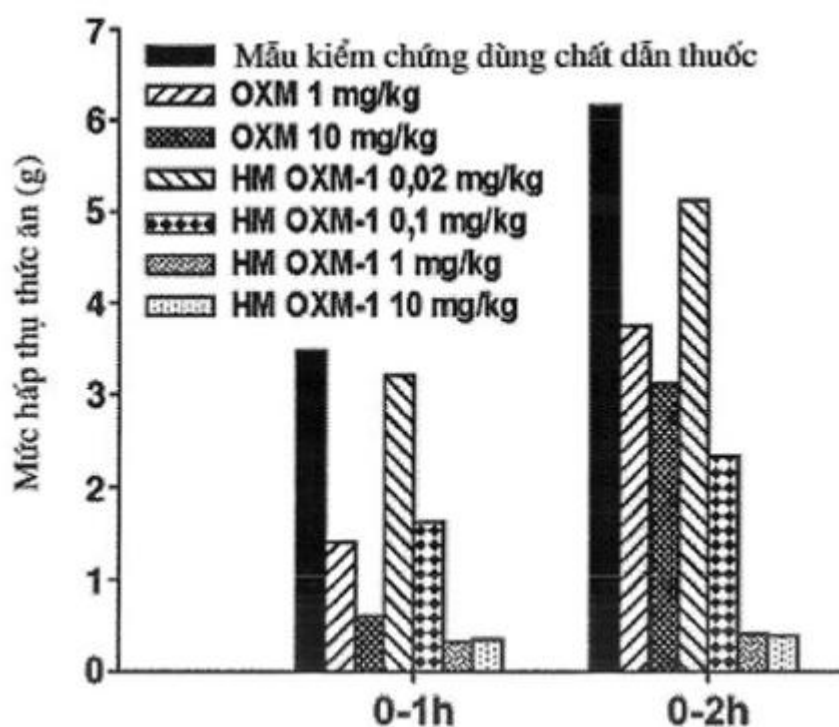
550, Dongtangiheung-ro, Dongtan-myeon, Hwaseong-si, Gyeonggi-do 445-813,
Republic of Korea

(72) JUNG Sung Youb (KR); JANG Myung Hyun (KR); SHEN Ling Ai (KR); PARK
Young Kyung (KR); PARK Young Jin (KR); KWON Se Chang (KR).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) PEPTIT CÓ HOẠT TÍNH ĐỐI VỚI THỤ THỂ PEPTIT-1 GIỐNG GLUCAGON
VÀ DƯỢC PHẨM ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH BÉO PHÌ CHỨA PEPTIT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến peptit có hoạt tính đối với thụ thể peptit-1 giống glucagon và thụ thể glucagon tốt hơn so với oxyntomodulin tự nhiên, và dược phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì chứa hoạt chất là peptit này. Không giống như oxyntomodulin tự nhiên, peptit theo sáng chế làm giảm mức hấp thụ thức ăn, ức chế quá trình làm rỗng dạ dày, và tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình phân giải lipid với tác dụng phụ giảm, và còn có tác dụng hoạt hóa thụ thể rất tốt. Do vậy, nó có thể được sử dụng rộng rãi trong điều trị bệnh béo phì một cách an toàn và hiệu quả.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến peptit có hoạt tính đối với thụ thể peptit-1 giống glucagon và thụ thể glucagon tốt hơn so với oxyntomodulin tự nhiên, và được phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì chứa hoạt chất là peptit này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Gần đây, sự phát triển kinh tế và những thay đổi về lối sống đang dẫn đến những thay đổi về thói quen ăn uống. Nguyên nhân chính làm gia tăng thừa cân và tỷ lệ bệnh béo phì ở người hiện đại là do ăn thức ăn có hàm lượng calo cao như thức ăn nhanh và thiếu tập luyện. Tổ chức y tế thế giới (World Health Organization - WHO) ước tính rằng hơn 1 tỷ người trên toàn thế giới là béo phì và ít nhất 300 triệu người trong số họ là béo phì về mặt lâm sàng. Cụ thể, 250.000 người chết mỗi năm ở châu Âu và hơn 2,5 triệu người trên toàn thế giới chết mỗi năm do thừa cân (World Health Organization, Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health, 2004).

Thừa cân và béo phì làm tăng huyết áp và mức cholesterol làm xuất hiện hoặc gây trầm trọng nhiều bệnh khác như bệnh tim mạch, bệnh đái đường, và bệnh khớp, và cũng là nguyên nhân chính làm gia tăng tỷ lệ mắc phải bệnh xơ cứng động mạch, bệnh tăng huyết áp, chứng tăng lipid huyết hoặc bệnh tim mạch ở trẻ em hoặc thanh thiếu niên cũng như ở người trưởng thành.

Bệnh béo phì là căn bệnh nghiêm trọng gây ra nhiều bệnh khác trên toàn thế giới. Người ta cho rằng để khắc phục được căn bệnh này thì cần phải có sự nỗ lực của mỗi cá nhân, tuy nhiên bệnh nhân bị mắc bệnh béo phì thiếu khả năng tự kiểm soát. Bệnh béo phì rất khó điều trị vì nó là rối loạn phức tạp liên quan đến quá trình điều hòa sự thèm ăn và quá trình chuyển hóa năng lượng. Để điều trị bệnh béo phì, cần điều trị các biến động bất thường liên quan đến quá trình điều hòa sự thèm ăn và quá trình chuyển hóa năng lượng cùng với nỗ lực của bệnh nhân bị mắc bệnh béo phì. Nhiều nỗ lực đã được thực hiện nhằm phát triển thuốc có khả năng điều trị các biến động bất thường này. Đã có nhiều cố gắng để phát triển các thuốc như Rimonabant (Sanofi-Aventis), Sibutramin (Abbott), Contrave (Takeda), và Orlistat (Roche), nhưng chúng có nhược điểm là có tác dụng bất lợi nghiêm trọng hoặc tác dụng chống béo phì rất thấp. Ví dụ, đã có thông báo rằng Rimonabant (Sanofi-Aventis) có tác dụng phụ liên quan đến rối loạn thần kinh trung ương, Sibutramin (Abbott) và Contrave (Takeda) có tác dụng phụ liên quan đến tim mạch, và Orlistat (Roche) chỉ làm giảm được 4 kg trọng lượng khi dùng thuốc trong 1 năm. Đáng tiếc là, vẫn chưa có tác nhân trị bệnh béo phì có thể được kê đơn một cách an toàn cho bệnh nhân bị

mắc bệnh béo phì.

Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để phát triển tác nhân trị bệnh béo phì không có các nhược điểm của thuốc chống béo phì thông thường. Gần đây, người ta đã chú ý nhiều đến dẫn xuất glucagon. Glucagon được tụy sản xuất khi mức glucoza trong máu hạ xuống do tác động của các thuốc hoặc căn bệnh khác, do thiếu hụt hormon hoặc enzym. Glucagon kích thích phân giải glycogen trong gan, và tạo điều kiện thuận lợi cho việc giải phóng glucoza để làm tăng mức glucoza huyết đến khoảng bình thường. Ngoài tác động đến việc làm tăng mức glucoza huyết, glucagon còn ức chế sự thèm ăn và hoạt hóa lipaza mẫn cảm hormon (HSL) của các tế bào tạo mỡ để tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình phân giải lipid, nhờ đó có tác dụng chống béo phì. Một trong những dẫn xuất của glucagon là peptit-1 giống glucagon (GLP-1) đang được phát triển làm tác nhân trị chứng tăng glucoza huyết ở bệnh nhân mắc bệnh đái đường, và nó thực hiện chức năng kích thích tổng hợp và tiết insulin, để ức chế quá trình tiết glucagon, làm chậm quá trình làm rỗng dạ dày, làm tăng mức sử dụng glucoza, và ức chế sự hấp thụ thức ăn. Exendin-4 được phân lập từ nọc của thằn lằn có khoảng 50% axit amin tương đồng với GLP-1 và cũng được báo cáo là có thể hoạt hóa thụ thể GLP-1, nhờ đó làm cải thiện chứng tăng glucoza huyết ở bệnh nhân mắc bệnh đái đường. Tuy nhiên, đã có báo cáo rằng thuốc chống béo phì chứa GLP-1 có các tác dụng phụ như chứng nôn và buồn nôn.

Vì vậy, như một giải pháp thay thế cho GLP-1, người ta đã chú ý tập trung hơn vào oxyntomodulin, peptit có nguồn gốc từ tiền chất glucagon, pre-glucagon gắn kết với thụ thể của hai peptit, GLP-1 và glucagon. Oxyntomodulin là tác nhân trị liệu chống béo phì hiệu lực vì nó ức chế sự hấp thụ thức ăn như GLP-1, thúc đẩy cảm giác no, và có hoạt tính phân giải mỡ như glucagon.

Dựa trên chức năng kép của peptit oxyntomodulin, người ta đã tích cực nghiên cứu nó làm thuốc để điều trị bệnh béo phì. Ví dụ, patent Hàn Quốc số 925017 đề cập đến được phẩm chứa oxyntomodulin làm hoạt chất để điều trị béo phì ở người, được dùng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, qua niêm mạc, qua trực tràng, dưới da, hoặc qua da. Tuy nhiên, đã có báo cáo rằng thuốc chống béo phì chứa oxyntomodulin có chu kỳ bán rã *in vivo* ngắn và hiệu quả điều trị thấp, mặc dù được dùng ở liều cao 3 lần mỗi ngày. Do vậy, người ta đã nỗ lực cải thiện chu kỳ bán rã *in vivo* hoặc tác dụng điều trị của oxyntomodulin đối với bệnh béo phì bằng cách cải biến nó.

Ví dụ, chất chủ vận oxyntomodulin kép (Merck) được điều chế bằng cách thay thế L-serin bằng D-serin ở vị trí 2 của oxyntomodulin để làm tăng độ bền với dipeptidyl peptidaza-IV (DPP-IV) và đồng thời gắn gốc cholesterol ở đầu C để làm tăng chu kỳ bán rã máu. ZP2929 (Zealand) được điều chế bằng cách thay thế L-serin bằng D-serin ở vị trí 2 để tăng cường độ bền với DPP-IV, thay thế arginin bằng alanin ở vị trí 17 để tăng cường độ bền với proteaza, thay thế metionin bằng lysin ở

vị trí 27 để tăng cường độ ổn định oxy hóa, và thay thế glutamin bằng axit aspartic và alanin ở các vị trí 20 và 24 và asparagin bằng serin ở vị trí 28 để tăng cường độ ổn định khử amit hóa. Tuy nhiên, mặc dù chu kỳ bán rã của chất chủ vận oxyntomodulin kép (Merck) được tăng cường tới mức dài hơn 8~12 phút so với oxyntomodulin tự nhiên, nó vẫn có chu kỳ bán rã *in vivo* rất ngắn là 1,7 giờ và liều dùng của nó cũng cao chừng vài mg/kg. Đáng tiếc là, oxyntomodulin hoặc dẫn xuất của chúng có nhược điểm là phải dùng liều cao hằng ngày do chu kỳ bán rã ngắn và hiệu quả thấp.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã phát triển dẫn xuất oxyntomodulin bằng cách cải biến trình tự axit amin của oxyntomodulin tự nhiên nhằm tăng cường tác dụng điều trị của nó đối với bệnh béo phì và làm giảm liều dùng của nó. Qua đó, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng dẫn xuất oxyntomodulin có hoạt tính đối với thụ thể glucagon và thụ thể GLP-1 tốt hơn so với oxyntomodulin tự nhiên, nhờ đó thực hiện được sáng chế này.

Theo một mục đích, sáng chế đề xuất peptit có tác dụng điều trị rất tốt đối với bệnh béo phì.

Theo một mục đích khác, sáng chế đề xuất được phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, chứa peptit.

Theo một mục đích khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì bằng cách cho đối tượng sử dụng peptit hoặc chế phẩm theo sáng chế.

Theo một mục đích khác nữa, sáng chế mô tả việc sử dụng peptit để bào chế thuốc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì.

Hiệu quả có lợi

Không giống như oxyntomodulin tự nhiên, peptit theo sáng chế làm giảm sự hấp thụ thức ăn, ức chế quá trình làm rỗng dạ dày, và tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình phân giải lipid mà không có các tác dụng phụ, và còn có tác dụng hoạt hóa thụ thể rất tốt. Do vậy, nó có thể được sử dụng rộng rãi trong điều trị bệnh béo phì đạt an toàn và hiệu quả.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig. 1 là đồ thị thể hiện sự thay đổi về mức hấp thụ thức ăn theo liều dùng oxyntomodulin hoặc dẫn xuất oxyntomodulin.

Mô tả chi tiết sáng chế

Để đạt được các mục đích nêu trên, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất peptit bao gồm trình tự axit amin có công thức 1 sau.

R1-X1-X2-GTFTSD-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X1

5-X16-X17-X18-X19-X20-X21-X22-X23- X24-R2 (SEQ ID NO: 51) (Công thức 1) trong đó

R1 là histidin, desamino-histidyl, dimetyl-histidyl (N-dimetyl-histidyl), beta-hydroxyimidazopropionyl, 4-imidazoaxetyl, beta-carboxy imidazopropionyl hoặc tyrosin;

X1 là Aib(axit aminoisobutyric), d-alanin, glyxin, Sar(N-metylglyxin), serin, hoặc d-serin;

X2 là axit glutamic hoặc glutamin;

X3 là leuxin hoặc tyrosin;

X4 là serin hoặc alanin;

X5 là lysin hoặc arginin;

X6 là glutamin hoặc tyrosin;

X7 là leuxin hoặc metionin;

X8 là axit aspartic hoặc axit glutamic;

X9 là axit glutamic, serin, axit alpha-metyl-glutamic hoặc bị khuyết;

X10 là glutamin, axit glutamic, lysin, arginin, serin hoặc bị khuyết;

X11 là alanin, arginin, valin hoặc bị khuyết;

X12 là alanin, arginin, serin, valin hoặc bị khuyết;

X13 là lysin, glutamin, arginin, axit alpha-metyl-glutamic hoặc bị khuyết;

X14 là axit aspartic, axit glutamic, leuxin hoặc bị khuyết;

X15 là phenylalanin hoặc bị khuyết;

X16 là isoleuxin, valin hoặc bị khuyết;

X17 là alanin, xystein, axit glutamic, lysin, glutamin, axit alpha-metyl-glutamic hoặc bị khuyết;

X18 là tryptophan hoặc bị khuyết;

X19 là alanin, isoleuxin, leuxin, serin, valin hoặc bị khuyết;

X20 là alanin, lysin, metionin, glutamin, arginin hoặc bị khuyết;

X21 là asparagin hoặc bị khuyết;

X22 là alanin, glyxin, threonin hoặc bị khuyết;

X23 là xystein, lysin hoặc bị khuyết;

X24 là peptit có từ 2 đến 10 axit amin chứa hỗn hợp của alanin, glyxin và serin, hoặc bị khuyết; và

R2 là KRNRNNIA (SEQ ID số 32), GPSSGAPPPS (SEQ ID số 33), GPSSGAPPPSK (SEQ ID số 34), HSQGTFTSDYSKYLD (SEQ ID số 35), HSQGTFTSDYSRYLDK (SEQ ID số 36), HGEGTFTSDLSKQMEEEAVK (SEQ ID số 37) hoặc bị khuyết (bị loại trừ nếu trình tự axit amin có công thức 1 giống với trình tự của SEQ ID số 1).

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "peptit" nghĩa là hợp chất của hai hoặc nhiều ô-axit amin được nối bởi liên kết peptit. Đối với mục đích theo sáng chế, nó có nghĩa

là peptit hoạt hóa cả thụ thể GLP-1 và thụ thể glucagon để có tác dụng chống béo phì. Peptit theo sáng chế bao gồm peptit, dẫn xuất peptit hoặc chất tương tự peptit được điều chế bằng cách bổ sung, khuyết đoạn hoặc thay thế axit amin của oxyntomodulin để hoạt hóa cả thụ thể GLP-1 và thụ thể glucagon ở mức cao so với oxyntomodulin tự nhiên.

Axit amin được đề cập trong bản mô tả này được viết tắt theo quy tắc danh pháp của IUPAC-IUB như sau:

Alanin	A	Arginin	R
Asparagin	N	Axit aspartic	D
Xystein	C	Axit glutamic	E
Glutamin	Q	Glyxin	G
Histidin	H	Isoleuxin	I
Leuxin	L	Lysin	K
Metionin	M	Phenylalanin	F
Prolin	P	Serin	S
Threonin	T	Tryptophan	W
Tyrosin	Y	Valin	V

Theo sáng chế, peptit bao hàm peptit bất kỳ được điều chế bằng cách thay thế, bổ sung, khuyết đoạn hoặc các cải biến sau phiên mã (ví dụ, metyl hóa, axyl hóa, ubiquitin hóa, tạo liên kết cộng hoá trị nội phân tử) trong trình tự axit amin của oxyntomodulin (HSQGTFTSDYSKYLDSSRAQDFVQWLMNTRNRNNIA, SEQ ID số 1) để hoạt hóa glucagon và thụ thể GLP-1 đồng thời. Khi thay thế hoặc bổ sung axit amin, axit amin bất kỳ trong số 20 axit amin thường phát hiện được trong protein người cũng như axit amin không điển hình hoặc không xuất hiện trong tự nhiên có thể được sử dụng. Các nguồn axit amin không điển hình sẵn có trên thị trường bao gồm Sigma-Aldrich, ChemPep Inc., và Genzyme Pharmaceuticals. Peptit bao gồm các axit amin này và trình tự peptit không điển hình có thể được tổng hợp và được mua từ các nhà cung cấp thương mại, ví dụ, American Peptide Company hoặc Bachem (USA) hoặc Anygen (Korea).

Để tăng cường hoạt tính của oxyntomodulin kiểu đại đối với thụ thể glucagon và thụ thể GLP-1, peptit theo sáng chế có thể được thế bằng 4-imidazoaxetyl trong đó alpha cacbon của histidin ở vị trí 1 của trình tự axit amin được đại diện bằng SEQ ID số 1 bị khuyết, desamino-histidyl trong đó nhóm amin đầu N bị khuyết, dimethyl-histidyl (N-dimethyl-histidyl) trong đó nhóm amin đầu N được cải biến bằng hai nhóm metyl, beta-hydroxy imidazopropionyl trong đó nhóm amin đầu N được thế bằng nhóm hydroxyl, hoặc beta-carboxy imidazopropionyl trong đó nhóm amin đầu N được thế bằng nhóm carboxyl. Ngoài ra, vùng gắn kết thụ thể GLP-1 có thể được thế bằng axit amin để tăng cường các liên kết kỵ nước và ion hoặc các tổ hợp của chúng. Một phần trình tự oxyntomodulin có thể được thế bằng trình tự axit amin của

GLP-1 hoặc Exendin-4 để tăng cường hoạt tính thụ thể GLP-1.

Ngoài ra, một phần trình tự oxyntomodulin có thể được thế bằng trình tự làm ổn định hình xoắn ốc alpha. Tốt hơn là, axit amin ở các vị trí 10, 14, 16, 20, 24 và 28 của trình tự axit amin có công thức 1 có thể được thế bằng axit amin hoặc dẫn xuất axit amin chứa Tyr(4-Me), Phe, Phe(4-Me), Phe(4-Cl), Phe(4-CN), Phe(4-NO₂), Phe(4-NH₂), Phg, Pal, Nal, Ala(2-thienyl) và Ala(benzothienyl) được biết là làm ổn định hình xoắn ốc alpha, và không bị hạn chế về dạng và số lượng axit amin hoặc dẫn xuất axit amin làm ổn định hình xoắn ốc alpha được cài xen vào. Tốt hơn là, axit amin ở các vị trí 10 và 14, 12 và 16, 16 và 20, 20 và 24, và 24 và 28 có thể cũng được thế lần lượt bằng axit glutamic hoặc lysin để tạo thành vòng, và không bị hạn chế về số lượng các vòng được cài xen vào. Tốt nhất, nếu peptit có thể là peptit có trình tự axit amin được chọn từ các công thức từ 2 đến 6 sau.

Theo một phương án cụ thể, peptit theo sáng chế là dẫn xuất oxyntomodulin bao gồm trình tự axit amin có công thức sau 2 trong đó trình tự axit amin của oxyntomodulin được thế bằng trình tự axit amin của exendin hoặc GLP-1.

R1-A-R3 (SEQ ID NO: 52) (Công thức 2)

Theo một phương án cụ thể khác, peptit theo sáng chế là dẫn xuất oxyntomodulin bao gồm trình tự axit amin có công thức sau 3, được điều chế bằng cách liên kết một phần trình tự axit amin của oxyntomodulin và một phần trình tự axit amin của exendin hoặc GLP-1 qua cầu nối axit amin thích hợp.

R1-B-C-R4 (SEQ ID NO: 53) (Công thức 3)

Theo một phương án cụ thể khác nữa, peptit theo sáng chế là dẫn xuất oxyntomodulin bao gồm trình tự axit amin có công thức 4 sau, trong đó một phần trình tự axit amin của oxyntomodulin được thế bằng axit amin có khả năng tăng cường ái lực gắn kết với thụ thể GLP-1, ví dụ, Leu ở vị trí 26 gắn kết với thụ thể GLP-1 bằng tương tác kỵ nước được thế bằng gốc kỵ nước, Ile hoặc Val.

R1-SQGTFTSDYSKYLD-D1-D2-D3-D4-D5-LFVQW-D6-D7-N-D8-R3

(SEQ ID NO: 54) (Công thức 4)

Theo một phương án cụ thể khác nữa, peptit theo sáng chế là dẫn xuất oxyntomodulin bao gồm Công thức 5 sau, trong đó một phần trình tự axit amin bị khuyết, được bổ sung, hoặc được thế bằng axit amin khác để tăng cường hoạt tính của oxyntomodulin tự nhiên đối với thụ thể GLP-1 và thụ thể glucagon.

R1-E1-QGTFTSDYSKYLD-E2-E3-RA-E4-E5-FV-E6-WLMNT-E7-R5

(SEQ ID NO: 55) (Công thức 5)

Trong các Công thức từ 2 đến 5, R1 là giống như trong phần mô tả có công thức 1;

A được chọn từ nhóm bao gồm:

SQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT (SEQ ID số 38),

SQGTFTSDYSKYLDDEAVRLFIEWLMNT (SEQ ID số 39),

SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVAWLKNT (SEQ ID số 40),
 GQGTFTSDYSRYLEEEAVRLFIEWLKNG (SEQ ID số 41),
 GQGTFTSDYSRQMEEEEAVRLFIEWLKNG (SEQ ID số 42),
 GEGTFTSDLSRQMEEEEAVRLFIEWAA (SEQ ID số 43), và
 SQGTFTSDYSRQMEEEEAVRLFIEWLMNG (SEQ ID số 44);

B được chọn từ nhóm bao gồm:

SQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQWLMNT (SEQ ID số 38),
 SQGTFTSDYSKYLDEEAVRLFIEWLMNT (SEQ ID số 39),
 SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVAWLKNT (SEQ ID số 40),
 GQGTFTSDYSRYLEEEAVRLFIEWLKNG (SEQ ID số 41),
 GQGTFTSDYSRQMEEEEAVRLFIEWLKNG (SEQ ID số 42),
 GEGTFTSDLSRQMEEEEAVRLFIEWAA (SEQ ID số 43),
 SQGTFTSDYSRQMEEEEAVRLFIEWLMNG (SEQ ID số 44),
 GEGTFTSDLSRQMEEEEAVRLFIEW (SEQ ID số 45), và
 SQGTFTSDYSRYLD (SEQ ID số 46);

C là peptit có từ 2 đến 10 axit amin chứa hỗn hợp của alanin, glyxin và serin;

D1 là serin, axit glutamic hoặc arginin;

D2 là arginin, axit glutamic hoặc serin;

D3 là arginin, alanin hoặc valin;

D4 là arginin, valin hoặc serin;

D5 là glutamin, arginin hoặc lysin;

D6 là isoleuxin, valin hoặc serin;

D7 là metionin, arginin hoặc glutamin;

D8 là threonin, glyxin hoặc alanin;

E1 là serin, Aib, Sar, d-alanin hoặc d-serin;

E2 là serin hoặc axit glutamic;

E3 là arginin hoặc lysin;

E4 là glutamin hoặc lysin;

E5 là axit aspartic hoặc axit glutamic;

E6 là glutamin, xystein hoặc lysin;

E7 là xystein, lysin hoặc bị khuyết;

R3 là KRNRNNIA (SEQ ID số 32), GPSSGAPPPS (SEQ ID số 33) hoặc
 GPSSGAPPPSK (SEQ ID số 34);

R4 là HSQGTFTSDYSKYLD (SEQ ID số 35), HSQGTFTSDYSRYLDK
 (SEQ ID số 36) hoặc HEGTFTSDLSKQMEEEEAVK (SEQ ID số 37); và,

R5 là KRNRNNIA (SEQ ID số 32), GPSSGAPPPS (SEQ ID số 33),
 GPSSGAPPPSK (SEQ ID số 34) hoặc bị khuyết (bị loại trừ nếu trình tự axit amin có
 công thức từ 2 đến 5 là giống với trình tự của SEQ ID số 1).

Tốt hơn, nếu peptit theo sáng chế có thể là peptit có Công thức 6 sau:

R1-X1-X2-GTFTSD-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-X20-X21-X22-X23-X24-R2
(SEQ ID NO: 56) (Công thức 6)

trong đó:

R1 là histidin, desamino-histidyl, 4-imidazoaxetyl hoặc tyrosin;
 X1 là Aib(axit aminoisobutyric), glyxin hoặc serin;
 X2 là axit glutamic hoặc glutamin;
 X3 là leuxin hoặc tyrosin;
 X4 là serin hoặc alanin;
 X5 là lysin hoặc arginin;
 X6 là glutamin hoặc tyrosin;
 X7 là leuxin hoặc metionin;
 X8 là axit aspartic hoặc axit glutamic;
 X9 là axit glutamic, axit alpha-metyl-glutamic hoặc bị khuyết;
 X10 là glutamin, axit glutamic, lysin, arginin hoặc bị khuyết;
 X11 là alanin, arginin hoặc bị khuyết;
 X12 là alanin, valin hoặc bị khuyết;
 X13 là lysin, glutamin, arginin, axit alpha-metyl-glutamic hoặc bị khuyết;
 X14 là axit aspartic, axit glutamic, leuxin hoặc bị khuyết;
 X15 là phenylalanin hoặc bị khuyết;
 X16 là isoleuxin, valin hoặc bị khuyết;
 X17 là alanin, xystein, axit glutamic, glutamin, axit alpha-metyl-glutamic hoặc bị khuyết;
 X18 là tryptophan hoặc bị khuyết;
 X19 là alanin, isoleuxin, leuxin, valin hoặc bị khuyết;
 X20 là alanin, lysin, metionin, arginin hoặc bị khuyết;
 X21 là asparagin hoặc bị khuyết;
 X22 là threonin hoặc bị khuyết;
 X23 là xystein, lysin hoặc bị khuyết;
 X24 là peptit có từ 2 đến 10 axit amin chứa glyxin hoặc bị khuyết; và
 R2 là KRNRNNIA (SEQ ID số 32), GPSSGAPPPS (SEQ ID số 33), GPSSGAPPPSK (SEQ ID số 34), HSQGTFTSDYSKYLD (SEQ ID số 35), HSQGTFTSDYSRYLDK (SEQ ID số 36), HGEGTFTSDLKQMEEEAVK (SEQ ID số 37) hoặc bị khuyết (bị loại trừ nếu trình tự axit amin có công thức 6 giống với trình tự của SEQ ID số 1).

Tốt hơn nữa là peptit theo sáng chế có thể được chọn từ nhóm chứa peptit có các SEQ ID số từ 1 đến 31. Còn tốt hơn nữa nếu peptit theo sáng chế có thể là dẫn xuất oxyntomodulin được mô tả trong Bảng 1 của Ví dụ 2-1.

Oxyntomodulin có hoạt tính của hai peptit, GLP-1 và glucagon. GLP-1 làm

giảm glucoza huyết, làm giảm mức hấp thụ thức ăn, và ức chế quá trình làm rỗng dạ dày, và glucagon làm tăng glucoza huyết, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình phân giải lipid và làm giảm thể trọng bằng cách làm tăng quá trình chuyển hóa năng lượng. Các tác dụng sinh học khác nhau của hai peptit này có thể gây ra các tác dụng không mong muốn như làm tăng glucoza huyết nếu glucagon có tác dụng ưu thế hơn so với GLP-1, hoặc gây ra buồn nôn và chứng nôn nếu GLP-1 có tác dụng ưu thế hơn so với glucagon. Vì vậy, dẫn xuất oxyntomodulin theo sáng chế không những làm tăng được các hoạt tính này, ví dụ, axit amin ở vị trí 1 và 11 của oxyntomodulin kìm hãm hoạt tính của glucagon, mà có thể được cải biến để làm cân bằng tỷ lệ hoạt tính của glucagon và GLP-1.

Các tác giả sáng chế đã thực hiện các thử nghiệm *in vitro* để chứng minh rằng peptit theo sáng chế có hoạt tính rất tốt đối với thụ thể GLP-1 và thụ thể glucagon, so với oxyntomodulin. Do vậy, đã gợi ý rằng peptit theo sáng chế hoạt hóa thụ thể GLP-1 và thụ thể glucagon có tác dụng điều trị đối với bệnh béo phì tốt hơn nhiều so với oxyntomodulin thông thường. Ngoài ra, tác dụng ức chế của nó đối với mức hấp thụ thức ăn *in vivo* được kiểm tra, và nó có tác dụng ức chế đối với mức hấp thụ thức ăn tốt hơn nhiều so với oxyntomodulin thông thường (Fig. 1).

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu rõ rằng khi dẫn xuất oxyntomodulin theo sáng chế được cải biến bằng cách sử dụng kỹ thuật thông thường, bao gồm cải biến bằng polyme như PEG và mạch đường hoặc dung hợp với albumin, transferrin, axit béo, và immunoglobulin để cải thiện tác dụng điều trị của dẫn xuất oxyntomodulin, chúng sẽ có tác dụng điều trị cực tốt so với oxyntomodulin tự nhiên. Vì vậy, dẫn xuất oxyntomodulin được cải biến cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polynucleotit mã hóa peptit.

Thuật ngữ "tính tương đồng", khi được sử dụng trong bản mô tả này đối với polynucleotit, chỉ ra mức tương tự về trình tự giữa trình tự axit amin kiểu dài hoặc trình tự nucleotit kiểu dài, và bao gồm trình tự gen có 75% hoặc cao hơn, tốt hơn là 85% hoặc cao hơn, tốt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn và thậm chí tốt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn tương đồng với trình tự polynucleotit mã hóa peptit. Đánh giá tính tương đồng có thể được thực hiện bằng mắt thường hoặc bằng cách sử dụng chương trình sẵn có trên thị trường. Bằng cách sử dụng chương trình máy tính sẵn có trên thị trường, tính tương đồng giữa hai hoặc nhiều trình tự có thể được biểu diễn dưới dạng tỷ lệ phần trăm (%), và tính tương đồng (%) giữa các trình tự liên kề có thể được đánh giá. Polynucleotit mã hóa peptit được cài xen vào véc-tơ và được biểu hiện để thu được lượng peptit lớn.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất được phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì chứa peptit.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "ngăn ngừa" nghĩa là tất cả các tác động mà nhờ đó sự xuất hiện của bệnh béo phì được kìm lại hoặc chậm phát triển bằng cách

dùng peptit hoặc dược phẩm, và thuật ngữ "điều trị" nghĩa là tất cả các tác động mà nhờ đó các triệu chứng bệnh béo phì được cải thiện hoặc được cải biến theo hướng thuận lợi bằng cách dùng peptit hoặc dược phẩm.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "dùng" nghĩa là việc đưa lượng chất đã xác định trước vào người bệnh bằng phương pháp thích hợp bất kỳ. Dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng qua đường dùng bất kỳ trong số các con đường thông thường, chùng nào nó có thể đạt đến mô mong muốn, ví dụ, nhưng không chỉ giới hạn ở, trong màng bụng (IP), tĩnh mạch, trong cơ, dưới da, trong da, qua đường miệng, khu trú, qua mũi, trong phổi, hoặc trong trực tràng. Tuy nhiên, do peptit được tiêu hóa khi dùng qua đường miệng, hoạt chất của dược phẩm để dùng qua đường miệng cần được phủ hoặc được bào chế để bảo vệ chống lại quá trình thoái hóa trong dạ dày.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "bệnh béo phì" dùng để chỉ sự tích tụ lượng dư của mô chứa mỡ trong cơ thể, và chỉ số khối lượng cơ thể (thể trọng (kg) chia cho bình phương chiều cao (m)) lớn hơn 25 được xem là béo phì. Bệnh béo phì thường bị gây ra bởi sự mất cân bằng năng lượng, khi lượng thức ăn hấp thụ vượt quá lượng năng lượng tiêu hao trong khoảng thời gian dài. Bệnh béo phì là bệnh chuyển hóa ảnh hưởng đến toàn bộ cơ thể, và làm tăng nguy cơ cho bệnh đái đường, chứng tăng lipit huyết, rối loạn chức năng giới tính, bệnh khớp, và bệnh tim mạch, và trong một số trường hợp, liên quan đến tỷ lệ mắc phải bệnh ung thư.

Dược phẩm theo sáng chế có thể còn chứa chất mang dược dụng, tá dược, hoặc chất pha loãng. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "dược dụng" có nghĩa là dược phẩm đủ để đạt được tác dụng điều trị mà không gây ra tác dụng phụ có hại, và có thể được dễ dàng xác định tùy thuộc vào loại bệnh, tuổi, thể trọng, tình trạng sức khỏe, giới tính của người bệnh, và độ nhạy với thuốc, đường dùng, kiểu dùng, tần suất dùng, khoảng thời gian điều trị, thuốc được sử dụng kết hợp hoặc đồng thời với dược phẩm theo sáng chế này, và các yếu tố khác đã biết trong y học.

Được phẩm bao gồm dẫn xuất theo sáng chế có thể còn chứa chất mang được dụng. Để dùng qua đường miệng, chất mang có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất kết dính, chất bôi trơn, chất gây rã, tá dược, chất hòa tan, chất phân tán, chất tạo ổn định, chất tạo huyền dịch, chất tạo màu, và chất điều hương. Đối với chế phẩm tiêm được, chất mang có thể bao gồm chất đệm, chất bảo quản, thuốc giảm đau, chất hòa tan, chất đẳng trương, và chất tạo ổn định. Đối với chế phẩm để dùng khu trú, chất mang có thể bao gồm bazơ, tá dược, chất bôi trơn, và chất bảo quản.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế thành nhiều dạng liều lượng kết hợp với chất mang dược dụng trên đây. Ví dụ, để dùng qua đường miệng, dược phẩm có thể được bào chế thành viên nén, thuốc viên, viên nang, cốm ngọt, huyền phù, sirô hoặc dạng xộp. Đối với chế phẩm tiêm được, dược phẩm có thể được bào chế thành ampun dưới dạng một liều duy nhất hoặc đồ chứa nhiều liều. Dược phẩm

cũng có thể được bào chế thành dung dịch, huyền phù, viên nén, viên tròn, viên nang và chế phẩm có tác dụng dài.

Mặt khác, ví dụ về chất mang, tá dược, và chất pha loãng thích hợp cho được phẩm bao gồm lactoza, đextroza, sucroza, sorbitol, manitol, xylitol, erythritol, maltitol, tinh bột, cao su acacia, alginat, gelatin, canxi phosphat, canxi silicat, xenluloza, metylxenluloza, vi tinh thể xenluloza, polyvinylpyrrolidon, nước, metylhydroxybenzoat, propylhydroxybenzoat, bột talc, magie stearat và dầu khoáng. Ngoài ra, được phẩm có thể còn chứa chất độn, chất chống đông tụ, chất bôi trơn, chất giữ ẩm, chất điều hương, và chất khử trùng.

Ngoài ra, được phẩm theo sáng chế có thể có chế phẩm bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm viên nén, viên tròn, bột, hạt, viên nang, huyền phù, các chất lỏng để sử dụng bên trong cơ thể, nhũ tương, sirô, dung dịch nước vô trùng, không chứa nước các dung môi, chế phẩm đông khô nhanh và viên thuốc đạn.

Ngoài ra, được phẩm có thể được bào chế thành dạng một liều duy nhất thích hợp cho cơ thể người bệnh, và tốt hơn là được bào chế thành chế phẩm hữu ích cho thuốc peptit theo phương pháp thông thường trong lĩnh vực được phẩm để được dùng bằng đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa như qua da, tĩnh mạch, trong cơ, trong động mạch, trong tủy sống, trong tủy sống, trong tâm thất, phổi, da, dưới da, trong màng bụng (IP), qua mũi, trong ruột kết, dùng khu trú, dưới lưỡi, âm đạo, hoặc trực tràng dùng, nhưng không chỉ giới hạn ở đó.

Peptit có thể được sử dụng bằng cách trộn với nhiều chất mang được dùng như nước muối sinh lý hoặc dung môi hữu cơ. Để làm tăng độ ổn định hoặc khả năng hấp thu, hydrat cacbon như glucoza, sucroza hoặc dextran, chất chống oxy hóa như axit ascorbic hoặc glutathion, chất càn hóa, protein có phân tử lượng thấp hoặc chất tạo ổn định khác có thể được sử dụng.

Liều lượng và tần suất dùng được phẩm theo sáng chế được xác định bởi dạng hoạt chất, cùng với nhiều yếu tố khác như bệnh cần được điều trị, đường dùng, tuổi, giới tính, và thể trạng của người bệnh, và mức nghiêm trọng của bệnh.

Tổng liều lượng hữu hiệu của được phẩm theo sáng chế có thể được dùng cho người bệnh trong một liều duy nhất, hoặc có thể được dùng trong khoảng thời gian dài trong nhiều liều theo quy trình điều trị phân đoạn. Trong được phẩm theo sáng chế, hàm lượng hoạt chất có thể thay đổi tùy thuộc vào mức nghiêm trọng của bệnh. Tốt hơn là, tổng liều lượng hằng ngày của peptit theo sáng chế có thể nằm trong khoảng từ 0,0001g đến 500mg cho mỗi 1 kg thể trọng của người bệnh. Tuy nhiên, liều hữu hiệu của peptit được xác định có xét đến nhiều yếu tố khác bao gồm tuổi, thể trạng, tình trạng sức khỏe, giới tính của người bệnh, mức nghiêm trọng của bệnh, chế độ ăn, và tốc độ bài tiết, ngoài đường dùng và tần suất điều trị của được phẩm. Vì vậy, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định liều lượng hữu hiệu thích hợp để sử dụng cụ thể được phẩm theo sáng chế. Được phẩm

theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể ở chế phẩm, và đường dùng và kiểu dùng, chừng nào mà nó có hiệu quả theo sáng chế.

Dược phẩm theo sáng chế có khoảng thời gian hiệu quả và độ chuẩn *in-vivo* rất tốt, nhờ đó làm giảm một cách đáng kể số lượng và tần suất dùng chúng.

Ngoài ra, dược phẩm có thể được dùng một mình hoặc kết hợp hoặc đồng thời với dược phẩm khác có tác dụng phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì. Dược phẩm có tác dụng phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì không bị giới hạn cụ thể, và có thể bao gồm chất chủ vận thụ thể GLP-1, chất chủ vận thụ thể leptin, chất ức chế DPP-IV, chất đối kháng thụ thể Y5, chất đối kháng thụ thể hormon tập trung melanin (MCH), chất chủ vận thụ thể Y2/3, chất chủ vận thụ thể MC3/4, chất ức chế lipaza dạ dày/tụy, chất chủ vận 5HT2c, chất chủ vận thụ thể ̑3A, chất chủ vận thụ thể amylin, chất đối kháng ghrelin, và/hoặc chất đối kháng thụ thể ghrelin.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, bao gồm bước cho đối tượng dùng peptit hoặc dược phẩm chứa chúng.

Theo sáng chế, thuật ngữ "đối tượng" là để chỉ đối tượng nghi có bệnh béo phì, có nghĩa là động vật có vú bao gồm người, chuột nhắt, và vật nuôi có bệnh béo phì hoặc có khả năng mắc bệnh béo phì. Tuy nhiên, đối tượng bất kỳ cần được điều trị bằng peptit hoặc dược phẩm theo sáng chế cũng bao hàm mà không giới hạn phạm vi của sáng chế. Dược phẩm chứa peptit theo sáng chế được dùng cho đối tượng nghi có bệnh béo phì, nhờ đó điều trị đối tượng một cách hiệu quả. Bệnh béo phì là như được mô tả trên đây.

Phương pháp trị liệu theo sáng chế có thể bao gồm bước dùng dược phẩm chứa peptit ở lượng hữu hiệu được dụng. Tổng liều lượng hằng ngày cần được xác định qua việc đánh giá y khoa thích hợp bởi thầy thuốc, và được dùng một lần hoặc nhiều lần. Đối với mục đích theo sáng chế, mức liều lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị cụ thể cho người bệnh cụ thể có thể thay đổi tùy thuộc vào nhiều yếu tố khác đã biết trong lĩnh vực y học, bao gồm loại và mức độ đáp ứng đạt được, chế phẩm cụ thể theo đó các chất khác được sử dụng cùng hoặc không được sử dụng cùng, tuổi, thể trọng, tình trạng sức khỏe, giới tính, và chế độ ăn của người bệnh, thời gian và đường dùng thuốc, tốc độ tiết dược phẩm, khoảng thời gian trị liệu, thuốc khác được sử dụng kết hợp hoặc đồng thời với dược phẩm theo sáng chế này, và các yếu tố tương tự đã biết trong lĩnh vực y học.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế mô tả việc sử dụng peptit hoặc dược phẩm chứa chúng để bào chế thuốc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn dựa vào các ví dụ sau. Tuy nhiên, các ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa, và sáng chế không được dự định

giới hạn ở các ví dụ này.

Ví dụ 1. Tạo ra dòng tế bào được hoạt hóa *in vitro*

Ví dụ 1-1: Tạo ra dòng tế bào có cAMP đáp ứng với GLP-1

PCR được thực hiện bằng cách sử dụng vùng tương ứng với ORF (khung đọc mở - Open Reading Frame) ở cADN (OriGene Technologies, Inc. USA) của gen thụ thể GLP-1 của người làm khuôn, và các đoạn môi ngược và xuôi sau bao gồm mỗi vị trí giới hạn trong số các vị trí giới hạn HindIII và EcoRI để thu được sản phẩm PCR.

Đoạn môi xuôi: 5'-CCCGGCCCGCGGCCGCTATTCGAAATAC-3'(SEQ ID số 47)

Đoạn môi ngược:

5'-GAACGGTCCGGAGGACGTCGACTCTTAAGATAG-3'(SEQ ID số 48)

Sản phẩm PCR được tách dòng vào véc-tơ biểu hiện tế bào động vật đã biết x0GC/dhfr để thu được véc-tơ tái tổ hợp x0GC/GLP1R.

Dòng tế bào CHO DG44 được nuôi cấy trong môi trường DMEM/F12 (FBS 10%) được chuyển nhiễm bằng véc-tơ tái tổ hợp x0GC/GLP1R bằng cách sử dụng Lipofectamin (Invitrogen, USA), và được nuôi cấy trong môi trường chọn lọc chứa 1 mg/mL G418 và 10 nM metotraxat. Các dòng tế bào vô tính đơn được chọn từ đó bằng kỹ thuật pha loãng giới hạn, và dòng tế bào có đáp ứng cAMP rất tốt với GLP-1 theo cách phụ thuộc nồng độ được chọn cuối cùng từ đó.

Ví dụ 1-2: Tạo ra dòng tế bào có cAMP đáp ứng với glucagon

PCR được thực hiện bằng cách sử dụng vùng tương ứng với ORF trong cADN (OriGene Technologies, Inc. USA) của gen thụ thể glucagon của người làm khuôn, và các đoạn môi ngược và xuôi sau bao gồm mỗi vị trí giới hạn trong số các vị trí giới hạn EcoRI và XhoI để thu được sản phẩm PCR.

Đoạn môi xuôi:

5'-CAGCGACACCGACCGTCCCCCGTACTTAAGGCC-3'(SEQ ID số 49)

Đoạn môi ngược:

5'-CTAACCGACTCTCGGGGAAGACTGAGCTCGCC-3'(SEQ ID số 50)

Sản phẩm PCR được tách dòng vào tế bào động vật đã biết véc-tơ biểu hiện x0GC/dhfr để tạo ra véc-tơ tái tổ hợp x0GC/GCGR.

Dòng tế bào CHO DG44 được nuôi cấy trong môi trường DMEM/F12 (FBS 10%) được chuyển nhiễm bằng véc-tơ tái tổ hợp x0GC/GCGR bằng cách sử dụng Lipofectamin, và được nuôi cấy trong môi trường chọn lọc chứa 1 mg/mL G418 và 10 nM metotraxat. Các dòng tế bào vô tính đơn được chọn từ đó bằng kỹ thuật pha loãng giới hạn, và dòng tế bào có đáp ứng cAMP rất tốt với glucagon theo cách phụ thuộc nồng độ được chọn cuối cùng từ đó.

Ví dụ 2. Thử nghiệm về hoạt tính *in vitro* của dẫn xuất oxyntomodulin

Ví dụ 2-1: Tổng hợp dẫn xuất oxyntomodulin

Để đo hoạt tính *in vitro* của dẫn xuất oxyntomodulin, dẫn xuất oxyntomodulin

có trình tự axit amin sau được tổng hợp (Bảng 1).

Bảng 1

Oxyntomodulin và dẫn xuất oxyntomodulin

STT SEQ ID	Trình tự axit amin
SEQ ID số 1	HSQGTFTSDYSKYLD S RRAQDFVQWLMNTKRNRRNNIA
SEQ ID số 2	CA-SQGTFTSDYSKYLD E EA V RLFIEWLMNTKRNRRNNIA
SEQ ID số 3	CA-SQGTFTSDYSKYLD E ERRAQDFVAWLKNTGPSSGAPPPS
SEQ ID số 4	CA-GQGTFTSDYSRYL E EEEA V RLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
SEQ ID số 5	CA-GQGTFTSDYSRQME E EEEA V RLFIEWLKNGGPSSGAPPPS
SEQ ID số 6	CA-GEGTFTSDLSRQME E EEEA V RLFIEWAAHSQGTFTSDYSKYLD
SEQ ID số 7	CA-SQGTFTSDYSRYLD E EA V RLFIEWLMNTK
SEQ ID số 8	CA-SQGTFTSDLSRQLE E EEEA V RLFIEWLMNK
SEQ ID số 9	CA-GQGTFTSDYSRYLD E EA V XLFIWLMNTKRNRRNNIA
SEQ ID số 10	CA-SQGTFTSDYSRQME E EEEA V RLFIEWLMNGGPSSGAPPPSK
SEQ ID số 11	CA-GEGTFTSDLSRQME E EEEA V RLFIEWAAHSQGTFTSDYSRYLDK
SEQ ID số 12	CA-SQGTFTSDYSRYLDGGGHGEGTFTSDLSKQME E EEAVK
SEQ ID số 13	CA-SQGTFTSDYSRYLD X E A VXLFIWLMNTK
SEQ ID số 14	CA-GQGTFTSDYSRYLD E EA V XLFIWLMNTKRNRRNNIA
SEQ ID số 15	CA-GQGTFTSDYSRYLD E EA V RLFIWLMNTKRNRRNNIA
SEQ ID số 16	CA-SQGTFTSDLSRQLEGGGHSQGTFTSDLSRQLEK
SEQ ID số 17	CA-SQGTFTSDYSRYLD E EA V RLFIEWIRNTKRNRRNNIA
SEQ ID số 18	CA-SQGTFTSDYSRYLD E EA V RLFIEWIRNGGPSSGAPPPSK
SEQ ID số 19	CA-SQGTFTSDYSRYLD E EA V <u>K</u> LFIEWIRNTKRNRRNNIA
SEQ ID số 20	CA-SQGTFTSDYSRYLD E EA V <u>K</u> LFIEWIRNGGPSSGAPPPSK
SEQ ID số 21	CA-SQGTFTSDYSRQLE E EEEA V RLFIEWVRNTKRNRRNNIA
SEQ ID số 22	DA-SQGTFTSDYSKYLD E KRA K EFVQWLMNTK
SEQ ID số 23	HAibQGTFTSDYSKYLD E KRAKEFVCWLMNT
SEQ ID số 24	HAibQGTFTSDYSKYLD E KRAKEFVQWLMNTC
SEQ ID số 25	HAibQGTFTSDYSKYLD E KRA K EFVQWLMNTC
SEQ ID số 26	HAibQGTFTSDYS K YLD E KRAKEFVQWLMNTC
SEQ ID số 27	HAibQGTFTSDYSKYLD E QA A K E FICWLMNT
SEQ ID số 28	HAibQGTFTSDYSKYLD E KRAKEFVQWLMNT
SEQ ID số 29	CA-AibQGTFTSDYSKYLD E KRA K EFVQWLMNTC
SEQ ID số 30	HAibQGTFTSDYAKYLD E KRA K EFVQWLMNTC
SEQ ID số 31	YAibQGTFTSDYSKYLD E KRA K EFVQWLMNTC

Trong Bảng 1, axit amin in đậm và gạch dưới là sự tạo thành vòng, và axit amin được đại diện bằng X nghĩa là axit amin không tự nhiên, axit alpha-metyl-glutamic. Ngoài ra, CA là 4-imidazoaxetyl, và DA là desamino-histidyl.

Ví dụ 2-2: Thử nghiệm về hoạt tính *in vitro* của dẫn xuất oxyntomodulin

Để đo tác dụng chống béo phì của dẫn xuất oxyntomodulin được tổng hợp trong Ví dụ 2-1, hoạt tính tế bào được đo *in vitro* bằng cách sử dụng các dòng tế bào được điều chế trong các Ví dụ 1-1 và 1-2.

Các dòng tế bào này là các dòng tế bào được tạo ra bằng cách chuyển nhiễm CHO (Chinese Hamster Ovary) để biểu hiện lần lượt gen thụ thể GLP-1 của người và gen thụ thể glucagon. Do vậy, chúng thích hợp để đo hoạt tính GLP-1 và glucagon. Vì vậy, hoạt tính của mỗi dẫn xuất oxyntomodulin được đo bằng cách sử dụng mỗi dòng tế bào được biến nạp.

Đặc biệt, mỗi dòng tế bào được nuôi cấy dưới dòng hai lần hoặc ba lần mỗi tuần, và lấy lượng nhỏ vào mỗi lỗ của đĩa 96 giếng ở mật độ 1×10^5 , tiếp đó là nuôi cấy trong 24 giờ.

Các tế bào đã nuôi cấy được rửa bằng dung dịch đệm KRB và tạo huyền phù trong 40 ml dung dịch đệm KRB chứa 1 mM IBMX, và để ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút. Oxyntomodulin (SEQ ID số 1) và dẫn xuất oxyntomodulin (được đại diện bằng các SEQ ID số 2-6, 8, 10-13, 17, 18, 23-25, 27-30 và 31) được pha loãng từ 1000 nM đến 0,02 nM bằng pha loãng chuỗi 5 lần, và mỗi 40mL của chúng được bổ sung vào các tế bào, và được nuôi cấy ở 37°C trong 1 giờ trong tủ ấm CO₂. Sau đó, 20mL dung dịch đệm phân giải tế bào được bổ sung để phân giải tế bào, và sản phẩm phân giải tế bào được dùng cho kit thử nghiệm cAMP (Phân tử Device, USA) để đo nồng độ cAMP. Các giá trị EC₅₀ được tính toán từ đó, và so sánh với nhau. Các giá trị EC₅₀ được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây.

Bảng 2

So sánh hoạt tính *in vitro* đối với thụ thể GLP-1 và thụ thể glucagon giữa oxyntomodulin và dẫn xuất oxyntomodulin

STT SEQ ID	EC ₅₀ (nM)	
	CHO/GLP-1R	CHO/GCGR
SEQ ID số 1	50 – 210	10 - 43
SEQ ID số 2	51,8	12,8
SEQ ID số 3	>1,000	637,7
SEQ ID số 4	5,5	>1,000
SEQ ID số 5	5,9	>1,000
SEQ ID số 6	500,1	>1,000
SEQ ID số 8	419,6	>1,000
SEQ ID số 10	>1,000	>1,000
SEQ ID số 11	>1,000	>1,000
SEQ ID số 12	>1,000	>1,000
SEQ ID số 13	>1,000	>1,000
SEQ ID số 17	97,9	>1,000
SEQ ID số 18	96,3	>1,000

SEQ ID số 23	2,46	5,8
SEQ ID số 24	1,43	6,95
SEQ ID số 25	1,9	1,3
SEQ ID số 27	2,8-5,5	3,1-5,6
SEQ ID số 28	3,1	0,3
SEQ ID số 29	14,25	17,3
SEQ ID số 30	2,20	80,2
SEQ ID số 31	12,5	1,0

Như được thể hiện trong Bảng 2, dẫn xuất oxyntomodulin có hoạt tính *in vitro* rất tốt và tỷ lệ hoạt tính khác nhau đối với thụ thể GLP-1 và thụ thể glucagon, so với oxyntomodulin tự nhiên của SEQ ID số 1.

Đã biết rằng oxyntomodulin hoạt hóa cả thụ thể GLP-1 và thụ thể glucagon để kìm hãm sự thèm ăn, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình phân giải lipid, và thúc đẩy cảm giác no, nhờ đó có tác dụng chống béo phì. Dẫn xuất oxyntomodulin theo sáng chế có hoạt tính *in vitro* đối với cả thụ thể GLP-1 và thụ thể glucagon cao hơn so với oxyntomodulin kiểu đại, và vì vậy có thể được sử dụng làm tác nhân trị bệnh béo phì với hiệu lực cao hơn so với oxyntomodulin đã biết.

Ví dụ 3. Thử nghiệm về hoạt tính *in vivo* của dẫn xuất oxyntomodulin

Để đo hoạt tính trị liệu *in vivo* của dẫn xuất oxyntomodulin, sự thay đổi về mức hấp thụ thức ăn bằng cách dùng dẫn xuất oxyntomodulin được kiểm tra ở chuột nhắt ob/ob bằng cách sử dụng oxyntomodulin tự nhiên làm mẫu kiểm chứng.

Đặc biệt, chuột nhắt ob/ob béo phì bị bệnh đái đường, thường được sử dụng để thử nghiệm hiệu lực của tác nhân trị bệnh béo phì và bệnh đái đường, được cho nhịn đói trong 16 giờ, và được cho dùng 1 hoặc 10 mg/kg oxyntomodulin, hoặc 0,02, 0,1, 1 hoặc 10 mg/kg dẫn xuất oxyntomodulin của SEQ ID số 2. Sau đó, mức hấp thụ thức ăn được kiểm tra trong 2 giờ (Fig. 1). Fig. 1 là đồ thị thể hiện sự thay đổi về mức hấp thụ thức ăn theo liều dùng của oxyntomodulin hoặc dẫn xuất oxyntomodulin. Như được thể hiện trong Fig. 1, dùng 1 mg/kg dẫn xuất oxyntomodulin có tác dụng ức chế đối với mức hấp thụ thức ăn tốt hơn nhiều so với khi dùng 10 mg/kg oxyntomodulin.

Khi thực hiện cùng với nhau, dẫn xuất oxyntomodulin theo sáng chế có tác dụng chống béo phì cao hơn nhiều so với oxyntomodulin kiểu đại, mặc dù được dùng ở liều lượng thấp hơn, cho thấy các vấn đề của oxyntomodulin kiểu đại là có tác dụng chống béo phì thấp hơn và cần được dùng ở liều cao 3 lần mỗi ngày đã được cải thiện.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Peptit bao gồm axit amin có trình tự nêu trong SEQ ID NO: 24, 25 hoặc 26.
2. Peptit theo điểm 1, trong đó peptit này có khả năng hoạt hóa thụ thể GLP-1 và thụ thể glucagon.
3. Peptit theo điểm 1 hoặc 2, trong đó peptit này có tác dụng chống béo phì.
4. Peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó trình tự axit amin bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO: 24.
5. Peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó axit amin ở các vị trí 12 và 16, hoặc 16 và 20 của peptit tạo thành vòng.
6. Peptit theo điểm 5, trong đó trình tự axit amin bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO: 25.
7. Peptit theo điểm 5, trong đó trình tự axit amin bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO: 26.
8. Dược phẩm dùng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì, trong đó dược phẩm này chứa hoạt chất là peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7.
9. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó dược phẩm này còn chứa chất mang dược dụng.
10. Dược phẩm theo điểm 8 hoặc 9, trong đó dược phẩm này được dùng một mình hoặc kết hợp hoặc đồng thời với dược phẩm khác có tác dụng phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì.
11. Dược phẩm theo điểm 10, trong đó dược phẩm này có tác dụng phòng ngừa hoặc điều trị bệnh béo phì là chất chủ vận thụ thể GLP-1, chất chủ vận thụ thể leptin, chất ức chế DPP-IV, chất đối kháng thụ thể Y5, chất đối kháng thụ thể hormon tập trung melanin (MCH), chất chủ vận thụ thể Y2/3, chất chủ vận thụ thể MC3/4, chất ức chế lipaza dạ dày/tụy, chất chủ vận 5HT2c, chất chủ vận thụ thể β 3A, chất chủ vận thụ thể amylin, chất đối kháng ghrelin, hoặc chất đối kháng thụ thể ghrelin.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> JUNG, SUNG YOUB
 JANG, MYUNG HYUN
 SHEN, LING AI
 PARK, YOUNG KYUNG
 PARK, YOUNG JIN
 KWON, SE CHANG

<120> PEPTIT CÓ HOẠT TÍNH ĐỐI VỚI THỤ THỂ PEPTIT-1 GIỐNG GLUCAGON VÀ DƯỢC PHẨM
 ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH BÉO PHÌ CHỨA PEPTIT NÀY

<130> 106132.000030

<140> 1-2013-03868

<141> 7-6-2012

<150> PCT/KR2012/004494

<151> 2012-06-07

<150> KR 10-2011-0056472

<151> 2011-06-10

<160> 56

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> Đặc điểm MISC

<222> (1)..(37)

<223> Oxyntomodulin

<400> 1

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
 35

<210> 2

<211> 37

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 4-imidazoaxetyl

<400> 2

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
 35

<210> 3
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 3
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Arg Arg Ala Gln Asp Phe Val Ala Trp Leu Lys Asn Thr Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 4
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 4
 His Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 5
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 5
 His Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 35

<210> 6
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 6
 His Gly Glu Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Ala His Ser Gln Gly Thr
 20 25 30

Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp
 35 40

<210> 7
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 7
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys
 20 25 30

<210> 8
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 8
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Lys
 20 25

<210> 9
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (20)..(20)
 <223> Axit alpha-metyl-glutamic

<400> 9
 His Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Glu Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
 35

<210> 10
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 10
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 11
 <211> 43
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 11
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Ala His Ser Gln Gly Thr
 20 25 30

Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Lys
 35 40

<210> 12
 <211> 38
 <212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 4-imidazoaxetyl

<400> 12

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Gly
1 5 10 15

Gly Gly His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met
20 25 30

Glu Glu Glu Ala Val Lys

35

<210> 13

<211> 30

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 4-imidazoaxetyl

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> Axit alpha-metyl-glutamic

<220>

<221> MOD_RES

<222> (20)..(20)

<223> Axit alpha-metyl-glutamic

<400> 13

His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Glu Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys
20 25 30

<210> 14

<211> 37

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 4-imidazoaxetyl

<220>

<221> MOD_RES

<222> (20)..(20)

<223> Axit alpha-metyl-glutamic

<220>

<221> MOD_RES

<222> (24)..(24)

<223> Axit alpha-metyl-glutamic

<400> 14
 His Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Glu Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
 35

<210> 15
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (24)..(24)
 <223> Axit alpha-metyl-glutamic

<400> 15
 His Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr Lys Arg Asn
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
 35

<210> 16
 <211> 34
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 16
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Leu Glu Gly
 1 5 10 15

Gly Gly His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Leu
 20 25 30

Glu Lys

<210> 17
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 17
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ile Arg Asn Thr Lys Arg Asn
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
 35

<210> 18
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 18
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ile Arg Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 19
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (16)..(20)
 <223> Sự tạo thành vòng giữa các gốc

<400> 19
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Lys Leu Phe Ile Glu Trp Ile Arg Asn Thr Lys Arg Asn
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
 35

<210> 20
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (16)..(20)
 <223> Sự tạo thành vòng giữa các gốc

<400> 20
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Lys Leu Phe Ile Glu Trp Ile Arg Asn Gly Gly Pro Ser
 20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 35 40

<210> 21
 <211> 37
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<400> 21
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Leu Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Val Arg Asn Thr Lys Arg Asn
 20 25 30

Arg Asn Asn Ile Ala
 35

<210> 22
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Desamino-histidyl

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (16)..(20)
 <223> Sự tạo thành vòng giữa các gốc

<400> 22
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Lys
 20 25 30

<210> 23
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<400> 23
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Cys Trp Leu Met Asn Thr
 20 25

<210> 24
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<400> 24
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
 20 25 30

<210> 25
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (16)..(20)
 <223> Sự tạo thành vòng giữa các gốc

<400> 25
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
 20 25 30

<210> 26
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(16)
 <223> Sự tạo thành vòng giữa các gốc

<400> 26
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
 20 25 30

<210> 27
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (16)..(20)
 <223> Sự tạo thành vòng giữa các gốc

<400> 27
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Cys Trp Leu Met Asn Thr
 20 25

<210> 28
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<400> 28
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25

<210> 29
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> 4-imidazoaxetyl

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (16)..(20)
 <223> Sự tạo thành vòng giữa các gốc

<400> 29
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
 20 25 30

<210> 30
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (16)..(20)
 <223> Sự tạo thành vòng giữa các gốc

<400> 30
 His Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ala Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
 20 25 30

<210> 31
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc polypeptit tổng hợp của dẫn xuất Oxyntomodulin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (16)..(20)
 <223> Sự tạo thành vòng giữa các gốc

<400> 31
 Tyr Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10 15

Lys Arg Ala Lys Glu Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr Cys
 20 25 30

<210> 32
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm R2

<400> 32
 Lys Arg Asn Arg Asn Asn Ile Ala
 1 5

<210> 33
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm R2

<400> 33
 Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
 1 5 10

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

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm R2

<400> 34
 Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Lys
 1 5 10

<210> 35
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm R2

<400> 35
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 36
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm R2

<400> 36
 His Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp Lys
 1 5 10 15

<210> 37
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm R2

<400> 37
 His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
 1 5 10 15

Glu Ala Val Lys
 20

<210> 38
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm A hoặc B

 <400> 38
 Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Ser Arg
 1 5 10 15

 Arg Ala Gln Asp Phe Val Gln Trp Leu Met Asn Thr
 20 25

 <210> 39
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm A hoặc B

 <400> 39
 Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu Glu
 1 5 10 15

 Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Thr
 20 25

 <210> 40
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm A hoặc B

 <400> 40
 Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Glu Arg
 1 5 10 15

 Arg Ala Gln Asp Phe Val Ala Trp Leu Lys Asn Thr
 20 25

 <210> 41
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm A hoặc B

 <400> 41
 Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Glu Glu Glu
 1 5 10 15

 Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly
 20 25

 <210> 42
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm A hoặc B

 <400> 42
 Gly Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu Glu
 1 5 10 15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly
20 25

<210> 43
<211> 26
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm A hoặc B

<400> 43
Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Met Glu Glu Glu
1 5 10 15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Ala Ala
20 25

<210> 44
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm A hoặc B

<400> 44
Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Gln Met Glu Glu Glu
1 5 10 15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Met Asn Gly
20 25

<210> 45
<211> 24
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm B

<400> 45
Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Arg Gln Met Glu Glu Glu
1 5 10 15

Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp
20

<210> 46
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: cấu trúc peptit tổng hợp của nhóm B

<400> 46
Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Arg Tyr Leu Asp
1 5 10

<210> 47
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: đoạn mồi tổng hợp

<400> 47
ccgggcccc gcggccgcta ttcgaaatac 30

<210> 48
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: đoạn mỗi tổng hợp

 <400> 48
 gaacggtcgc gaggacgtcg actcttaaga tag 33

 <210> 49
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: đoạn mỗi tổng hợp

 <400> 49
 cagcgacacc gaccgtcccc ccgtacttaa ggcc 34

 <210> 50
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 đoạn mỗi

 <400> 50
 ctaaccgact ctccgggaag actgagctcg cc 32

 <210> 51
 <211> 60
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Histidin, desamino-histidyl, dimetyl-histidyl (N-dimetyl-
 histidyl), beta-hydroxyimidazopropionyl, 4-imidazoaxetyl,
 beta-carboxy imidazopropionyl hoặc tyrosin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib(axit aminosobutyric), d-Alanin, glyxin,
 Sar(N-metylglyxin), Serin hoặc d-Serin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Axit glutamic hoặc glutamin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Leuxin hoặc tyrosin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Serin hoặc Alanin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)

```

<223> Lysin hoặc arginin

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
<223> Glutamin hoặc tyrosin

<220>
<221> MOD_RES
<222> (14)..(14)
<223> Leuxin hoặc methionin

<220>
<221> MOD_RES
<222> (15)..(15)
<223> Axit aspartic hoặc axit glutamic

<220>
<221> MOD_RES
<222> (16)..(16)
<223> Axit glutamic, Serin, axit alpha-metyl-glutamic
        hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> Glutamin, axit glutamic, Lysin, arginin, Serin
        hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (18)..(18)
<223> Alanin, arginin, valin hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (19)..(19)
<223> Alanin, arginin, Serin, valin hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (20)..(20)
<223> Lysin, glutamin, arginin, axit alpha-metyl-glutamic
        hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Axit aspartic, axit glutamic, leuxin hoặc không có mặt

<220>
<221> Đặc điểm MISC
<222> (22)..(22)
<223> Có thể có mặt hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (23)..(23)
<223> Isoleuxin, valin hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> Alanin, Xystein, axit glutamic, Lysin, glutamin,
        axit alpha-metyl-glutamic hoặc không có mặt

<220>
<221> Đặc điểm MISC
<222> (25)..(25)
<223> Có thể có mặt hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (26)..(26)
<223> Alanin, isoleuxin, leuxin, Serin, valin
        hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (27)..(27)
<223> Alanin, lysin, methionin, glutamin, arginin

```

hoặc không có mặt

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (28)..(28)
 <223> Có thể có mặt hoặc không có mặt

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Alanin, glyxin, threonin hoặc không có mặt

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)
 <223> Xystein, lysin hoặc không có mặt

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (31)..(40)
 <223> Alanin, glyxin, Serin hoặc không có mặt

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (31)..(40)
 <223> Vùng này có thể bao gồm 2 đến 10 axit amin, trong đó một số vị trí có thể không có mặt

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (41)..(60)
 <223> Vùng này có thể bao gồm 8 đến 20 axit amin gồm "KRNRNNIA" hoặc "GPSSGAPPPS" hoặc "GPSSGAPPPSK" hoặc "HSQGTFTSDYSKYLD" hoặc "HSQGTFTSDYSRYLDK" hoặc "HGEGTFTSDLKQMEEEAVK," trong đó một số hoặc tất cả các vị trí có thể không có mặt

<220>
 <223> Xem bản mô tả đã nộp đối với phần mô tả chi tiết về các phương án thay thế và các phương án được ưu tiên

<400> 51
 Xaa Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 50 55 60

<210> 52
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Histidin, desamino-histidyl, dimetyl-histidyl (N-dimetyl-histidyl), beta-hydroxyimidazopropionyl, 4-imidazoaxetyl, beta-carboxy imidazopropionyl hoặc tyrosin

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (2)..(29)
 <223> Vùng này có thể bao gồm 26 to 28 axit amin gồm "SQGTFTSDYSKYLSRRRAQDFVQWLMNT" hoặc "SQGTFTSDYSKYLDEEAVRLFIEWLMNT" hoặc "SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVAWLKNT" hoặc "SQGTFTSDYSRYLEEEAVRLFIEWLKNG" hoặc "SQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLKNG"

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (2)..(29)
 <223> Tiếp tục từ phần bên trên; hoặc "GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEWAA" hoặc "SQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLMNG," trong đó một số vị trí có thể không có mặt

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (30)..(40)
 <223> Vùng này có thể bao gồm 8 đến 11 axit amin gồm "KRNRNNIA" hoặc "GPSSGAPPPS" hoặc "GPSSGAPPPSK," trong đó một số vị trí có thể không có mặt

<220>
 <223> Xem bản mô tả đã nộp đối với phần mô tả chi tiết về các phương án thay thế và các phương án được ưu tiên

<400> 52
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40

<210> 53
 <211> 59
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Histidin, desamino-histidyl, dimetyl-histidyl (N-dimetyl-histidyl), beta-hydroxyimidazopropionyl, 4-imidazoaxetyl, beta-carboxy imidazopropionyl hoặc tyrosin

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (2)..(29)
 <223> Vùng này có thể bao gồm 14 đến 28 axit amin gồm "SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVQWLMNT" hoặc "SQGTFTSDYSKYLDDEEAVRLFIEWLMNT" hoặc "SQGTFTSDYSKYLDERRAQDFVAWLKNT" hoặc "GQGTFTSDYSRYLEEEAVRLFIEWLKNG" hoặc "GQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLKNG"

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (2)..(29)
 <223> Tiếp tục từ phần bên trên; hoặc "GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEWAA" hoặc "SQGTFTSDYSRQMEEEAVRLFIEWLMNG" hoặc "GEGTFTSDLSRQMEEEAVRLFIEW" hoặc "SQGTFTSDYSRYLD," trong đó một số vị trí có thể không có mặt

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)..(39)
 <223> Alanin, glyxin, Serin hoặc không có mặt

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (30)..(39)
 <223> Vùng này có thể bao gồm 2 đến 10 axit amin, trong đó một số vị trí có thể không có mặt

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (40)..(59)
 <223> Vùng này có thể bao gồm 15 to 20 axit amin gồm "HSQGTFTSDYSKYLD" hoặc "HSQGTFTSDYSRYLDK" hoặc "HGEFTFTSDLSRQMEEEAVK," trong đó một số vị trí có thể không có mặt

<220>
 <223> Xem bản mô tả đã nộp đối với phần mô tả chi tiết về
 các phương án thay thế và các phương án được ưu tiên

<400> 53
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 50 55

<210> 54
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Histidin, desamino-histidyl, dimetyl-histidyl (N-dimetyl-
 histidyl), beta-hydroxyimidazopropionyl, 4-imidazoaxetyl,
 beta-carboxy imidazopropionyl hoặc tyrosin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Serin, axit glutamic hoặc arginin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 <223> Arginin, axit glutamic hoặc Serin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (18)..(18)
 <223> Arginin, Alanin hoặc valin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (19)..(19)
 <223> Arginin, valin hoặc Serin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (20)..(20)
 <223> Glutamin, arginin hoặc Lysin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26)..(26)
 <223> Isoleuxin, valin hoặc Serin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (27)..(27)
 <223> Methionin, arginin hoặc glutamin

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29)..(29)
 <223> Threonin, glyxin hoặc Alanin

<220>
 <221> Đặc điểm MISC
 <222> (30)..(40)
 <223> Vùng này có thể bao gồm 8 đến 11 axit amin gồm

"KRNRRNNIA" hoặc "GPSSGAPPPS" hoặc "GPSSGAPPPSK," trong đó một số vị trí có thể không có mặt

<220>

<223> Xem bản mô tả đã nộp đối với phần mô tả chi tiết về các phương án thay thế và các phương án được ưu tiên

<400> 54

Xaa Ser Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Phe Val Gln Trp Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40

<210> 55

<211> 41

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Histidin, desamino-histidyl, dimetyl-histidyl (N-dimetyl-histidyl), beta-hydroxyimidazopropionyl, 4-imidazoaxetyl, beta-carboxy imidazopropionyl hoặc tyrosin

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(2)

<223> Serin, Aib, Sar, d-Alanin hoặc d-Serin

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> Serin hoặc axit glutamic

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17)..(17)

<223> Arginin hoặc Lysin

<220>

<221> MOD_RES

<222> (20)..(20)

<223> Glutamin hoặc Lysin

<220>

<221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Axit aspartic hoặc axit glutamic

<220>

<221> MOD_RES

<222> (24)..(24)

<223> Glutamin, Xystein hoặc Lysin

<220>

<221> MOD_RES

<222> (30)..(30)

<223> Xystein, lysin hoặc không có mặt

<220>

<221> Đặc điểm MISC

<222> (31)..(41)

<223> Vùng này có thể bao gồm 8 đến 11 axit amin gồm "KRNRRNNIA" hoặc "GPSSGAPPPS" hoặc "GPSSGAPPPSK," trong đó một số hoặc tất cả các vị trí có thể không có mặt

<220>

<223> Xem bản mô tả đã nộp đối với phần mô tả chi tiết về các phương án thay thế và các phương án được ưu tiên

<400> 55
 Xaa Xaa Gln Gly Thr Phe Thr Ser Asp Tyr Ser Lys Tyr Leu Asp Xaa
 1 5 10 15

 Xaa Arg Ala Xaa Xaa Phe Val Xaa Trp Leu Met Asn Thr Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40

 <210> 56
 <211> 60
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Histidin, desamino-histidyl, 4-imidazoaxetyl hoặc tyrosin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Aib(axit aminosobutyric), glyxin hoặc Serin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Axit glutamic hoặc glutamin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10)..(10)
 <223> Leuxin hoặc tyrosin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Serin hoặc Alanin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Lysin hoặc arginin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Glutamin hoặc tyrosin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (14)..(14)
 <223> Leuxin hoặc methionin

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15)..(15)
 <223> Axit aspartic hoặc axit glutamic

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Axit glutamic, axit alpha-metyl-glutamic hoặc không có mặt

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 <223> Glutamin, axit glutamic, Lysin, arginin hoặc không có mặt

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (18)..(18)

```

<223> Alanin, arginin hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (19)..(19)
<223> Alanin, valin hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (20)..(20)
<223> Lysin, glutamin, arginin, axit alpha-metyl-glutamic
        hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (21)..(21)
<223> Axit aspartic, axit glutamic, leuxin hoặc không có mặt

<220>
<221> Đặc điểm MISC
<222> (22)..(22)
<223> Có thể có mặt hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (23)..(23)
<223> Isoleuxin, valin hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (24)..(24)
<223> Alanin, Xystein, axit glutamic, glutamin,
        axit alpha-metyl-glutamic hoặc không có mặt

<220>
<221> Đặc điểm MISC
<222> (25)..(25)
<223> Có thể có mặt hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (26)..(26)
<223> Alanin, isoleuxin, leuxin, valin hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (27)..(27)
<223> Alanin, lysin, methionin, arginin hoặc không có mặt

<220>
<221> Đặc điểm MISC
<222> (28)..(29)
<223> Có thể có mặt hoặc không có mặt

<220>
<221> MOD_RES
<222> (30)..(30)
<223> Xystein, lysin hoặc không có mặt

<220>
<221> Đặc điểm MISC
<222> (31)..(40)
<223> Vùng này có thể bao gồm 2 đến 10 gốc, trong đó một số
        vị trí có thể không có mặt

<220>
<221> Đặc điểm MISC
<222> (41)..(60)
<223> Vùng này có thể bao gồm 8 đến 20 axit amin gồm
        "KRNRRNNIA" hoặc "GPSSGAPPPS" hoặc "GPSSGAPPPSK" hoặc "HSQGTFTSDYSKYLD"
        hoặc "HSQGTFTSDYSRYLDK" hoặc "HGEFTFTSDLKQMEEEAVK," trong đó một số hoặc
        tất cả các vị trí có thể không có mặt

<220>
<223> Xem bản mô tả đã nộp đối với phần mô tả chi tiết về
        các phương án thay thế và các phương án được ưu tiên

<400> 56
Xaa Xaa Xaa Gly Thr Phe Thr Ser Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1          5          10          15

```

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Asn Thr Xaa Gly Gly
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 50 55 60

Fig. 1

