



(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)



1-0035400

(51)⁷ A61K 38/03; C07K 4/00; A61K 47/64; (13) B
A23L 33/18

(21) 1-2018-01876

(22) 14/09/2017

(86) PCT/KR2017/010085 14/09/2017

(87) WO2018/124425 05/07/2018

(30) 10-2016-0180408 27/12/2016 KR

(45) 25/04/2023 421

(43) 25/12/2018 369A

(73) HYSENSBIO (KR)

103ho, Dental Biomaterials Building, 101, Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 03080,
Republic of Korea

(72) PARK, Joo Hwang (KR); LEE, Ji Hyun (KR).

(74) Công ty TNHH Quốc tế D & N (D&N INTERNATIONAL CO.,LTD.)

(54) PEPTIT ĐỂ THÚC ĐẨY SỰ TÁI TẠO VÀ ĐIỀU TRỊ BỆNH VỀ NGÀ RĂNG
HOẶC TỦY RĂNG, DƯỢC PHẨM, CHẾ PHẨM VÀ SẢN PHẨM THỰC PHẨM
CHỨA PEPTIT NÀY

(57) Sáng chế đề xuất peptit để thúc đẩy sự tái tạo và điều trị bệnh về ngà răng hoặc tủy
răng, polynucleotit mã hóa peptit, vector biểu hiện bao gồm polynucleotit, và dược phẩm
chứa peptit, chế phẩm giả dược chứa peptit, và thực phẩm chức năng chứa peptit này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến peptit, và cụ thể hơn, đến peptit thúc đẩy sự tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng và điều trị quá cảm ngà răng, polynucleotit mã hóa peptit, vector biểu thị bao gồm polynucleotit, dược phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng chứa peptit, chế phẩm giả dược để ngăn ngừa hoặc cải thiện các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng chứa peptit, và thực phẩm chức năng để ngăn ngừa hoặc cải thiện các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng chứa peptit.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tủy răng là mô liên kết mềm chứa nhiều dây thần kinh và mạch máu nằm ở khoang tủy bên trong răng và mở rộng ra mặt ngoài của ngà răng. Các rối loạn xảy ra ở tủy răng được gọi là các bệnh tủy răng.

Có nhiều nguyên nhân dẫn đến các bệnh tủy răng, nhưng trong hầu hết các trường hợp, các bệnh tủy răng được gây ra bởi sự nhiễm vi khuẩn do bệnh sâu răng, hoặc sự nhiễm trùng ở tủy răng thông qua lỗ thủng, khe nứt, vết rạn nứt, hoặc túi nha chu. Vết thương bên ngoài, đồ mài mòn, các vết rạn nứt răng, hoặc độ ma sát hoặc nhiệt từ các thiết bị nha khoa cũng có thể gây ra các bệnh tủy răng. Viêm tủy răng do sự nhiễm khuẩn gây ra có thể dẫn đến các bệnh chân, đỉnh và quanh răng. Các bệnh tủy răng liên tục phát triển thành chứng sung huyết tủy răng, viêm tủy răng, và hoại tử tủy răng. Hoại tử tủy răng có thể dẫn đến các bệnh hoặc rối loạn quanh đỉnh đối với toàn bộ răng, bởi vì sự chết của tủy răng ngăn chặn sự cung cấp máu cho tủy răng và do vậy toàn bộ mô tủy răng bị mất.

Để điều trị các bệnh tủy răng hoặc quanh mào răng, các vật liệu chụp tủy răng và các vật liệu trám ống tủy răng được sử dụng, và các canxi hydroxit, MTA (Mineral Trioxide Aggregate -- Chất kết tụ khoáng chất trioxit), Guttapeca, v.v., thông thường được sử dụng. MTA cho thấy các hiệu quả điều trị bởi vì nó có khả năng bịt kín khe rò và khả năng tương thích sinh học. Tuy nhiên, việc sử dụng MTA bị cản trở do nó có giá thành tương đối cao dưới dạng vật liệu chữa răng và sự biến màu dẫn đến vấn đề về thẩm mỹ. Guttapeca có giá thành tương đối thấp và các đặc tính chảy tốt. Tuy

nhien, đó không phải phương pháp phù hợp về mặt vật lý làm mất khả năng sống của tủy răng. Cho đến bây giờ, các phép điều trị bảo toàn đối với các bệnh ngà răng và tủy răng có các vấn đề như răng yếu hoặc răng dễ vỡ hoặc tái nhiễm trùng.

Do đó, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện một cách tích cực để phát triển các tác nhân điều trị có khả năng điều trị hiệu quả các bệnh các bệnh ngà răng hoặc tủy răng. Ví dụ, công bố sáng chế Hàn Quốc số 2012-0089547 bộc lộ chế phẩm để tạo ra các mô cứng hoặc tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng, bao gồm các nguyên bào tạo men, các tế bào ngọn, hoặc môi trường nuôi cấy của chúng dưới dạng thành phần hoạt tính, và công bố patent Hàn Quốc số 2009-0033643 bộc lộ các tế bào thân răng sinh ra từ các nang răng và phương pháp nuôi cấy chúng.

Các tác giả sáng chế đã thực hiện nhiều nỗ lực để phát triển một tác nhân có khả năng điều trị hiệu quả hơn các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng, và kết quả là, họ đã phát triển các peptit thể hiện các hiệu quả thúc đẩy sự tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng và điều trị tính quá cảm ngà răng, nhờ đó hoàn thành sáng chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các phương án của sáng chế đề xuất peptit mới để thúc đẩy sự tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng và điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng.

Các phương án của sáng chế cũng đề xuất polynucleotit mã hóa peptit.

Các phương án của sáng chế cũng đề xuất vector biểu thị bao gồm polynucleotit.

Các phương án của sáng chế cũng đề xuất dược phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng bao gồm peptit.

Các phương án của sáng chế cũng đề xuất chế phẩm giả dược để ngăn ngừa hoặc cải thiện các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng bao gồm peptit.

Các phương án của sáng chế cũng đề xuất thực phẩm chức năng để ngăn ngừa hoặc cải thiện các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng bao gồm peptit.

Các phương án của sáng chế cũng đề xuất chế phẩm chứa peptit này để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng.

Các phương án của sáng chế cũng đề xuất chế phẩm chứa peptit này để thúc đẩy sự tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng.

Các phương án của sáng chế cũng đề xuất peptit chuỗi axit amin có công thức 1 sau đây hoặc chế phẩm bao gồm peptit để thúc đẩy sự tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng, trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị quá cảm ngà răng, và trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng:

K-Y-R1-R2-R3-R4-R5-R6-R7-R8 (công thức 1)

trong đó R1 là arginin (R), lysin (K) hoặc glutamin (Q);

R2 is arginin (R) hoặc glutamin (Q);

R3, R4, và R5 lần lượt là arginin (R) hoặc lysin (K);

R6 là asparagin (N) hoặc serin (S); và

R7 và R8 lần lượt là lysin (K) hoặc tyrosin (Y).

Các phương án của sáng chế cũng đề xuất peptit bao gồm một chuỗi axit amin bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 1 đến 96 hoặc chế phẩm bao gồm peptit để thúc đẩy sự tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng, trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị quá cảm ngà răng, và trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG.1A là đồ thị thể hiện kết quả so sánh các hiệu quả của các peptit của các nhóm sáng chế tương ứng về mức biểu hiện của DSPP mà là gen đánh dấu quá trình biệt hóa nguyên bào tạo răng.

FIG.1B là đồ thị thể hiện kết quả so sánh các mức biểu hiện của các gen Dspp đánh dấu quá trình biệt hóa nguyên bào tạo răng trong các tế bào MDPC-23 được điều trị bằng các peptit theo sáng chế.

FIG.1C là đồ thị thể hiện kết quả so sánh các mức biểu hiện của các gen đánh dấu quá trình biệt hóa nguyên bào tạo răng, Dspp, Dmpl, và Nestin trong các tế bào MDPC-23 được điều trị bằng các peptit của nhóm 11 và nhóm 12 của sáng chế.

FIG.1D là đồ thị thể hiện các kết quả đánh giá độc tính tế bào của các peptit theo sáng chế trên các tế bào tủy răng.

FIG.2 thể hiện các hình ảnh rất nhỏ về các mô giống như ngà răng/tủy răng được sinh ra *in vivo* trong 6 tuần sau khi ghép các mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A đến C là các hình ảnh rất nhỏ ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỉ lệ: A

200 μm , B 100 μm , C 50 μm); D đến F là các hình ảnh rất nhỏ ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 11 (khung tỉ lệ: D 200 μm , E 100 μm , F 50 μm); G đến I là các hình ảnh rất nhỏ ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 12 (khung tỉ lệ: G 200 μm , H 100 μm , I 50 μm); và J đến L là các hình ảnh rất nhỏ ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2 (khung tỉ lệ: J 200 μm , K 100 μm , L 50 μm).

FIG.3 thể hiện các hình ảnh rất nhỏ về các mức độ sản sinh collagen trong các mô giống với ngà răng/tủy răng mà được sinh ra *in vivo* trong 6 tuần sau khi ghép các mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A đến C thể hiện các kết quả ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỉ lệ: A 500 μm , B 200 μm , C 50 μm); D đến F thể hiện các kết quả ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 11 (khung tỉ lệ: D 500 μm , E 200 μm , F 50 μm); G đến I thể hiện các kết quả ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 12 (khung tỉ lệ: G 500 μm , H 200 μm , I 50 μm); và J đến L thể hiện các kết quả ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2 (khung tỉ lệ: J 500 μm , K 200 μm , L 50 μm).

FIG.4 là các hình ảnh nhuộm mô miễn dịch thể hiện các kết quả đánh giá các mức biểu hiện của DSP mà là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu cho nguyên bào tạo răng và BSP mà là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu cho nguyên bào xương trong các mô giống với ngà răng/tủy răng được sinh ra *in vivo* trong 6 tuần sau khi ghép các mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A và E thể hiện các kết quả ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP; B và F thể hiện các kết quả ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 11; C và G thể hiện các kết quả ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 12; và D và H thể hiện các kết quả ở 6 tuần sau khi ghép mô cấy so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2. Các mũi tên của A, B, C và D chỉ báo các miền biểu thị DSP ở các mô giống ngà răng mới được tạo ra, và các đầu mũi tên

của E, F, G và H chỉ báo các miền biểu thị BSP ở các mô giống với xương mới được tạo ra. Khung tỉ lệ là 50 μm .

FIG.5 thể hiện các hình ảnh rất nhỏ về các mô giống với ngà răng/tủy răng mà được sinh ra *in vivo* trong 12 tuần sau khi ghép các mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A đến C là các hình ảnh rất nhỏ ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỉ lệ: A 500 μm , B 200 μm , C 50 μm); D đến F là các hình ảnh rất nhỏ ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 11 (khung tỉ lệ: D 500 μm , E 200 μm , F 50 μm); G đến I là các hình ảnh rất nhỏ ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 12 (khung tỉ lệ: G 500 μm , H 200 μm , I 50 μm); và J đến L là các hình ảnh rất nhỏ ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2 (khung tỉ lệ: J 500 μm , K 200 μm , L 50 μm).

FIG.6 thể hiện các hình ảnh rất nhỏ về các mức độ sản sinh collagen ở các mô giống với ngà răng/tủy răng mà được sinh ra *in vivo* trong 12 tuần sau khi ghép các mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A đến C thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỉ lệ: A 500 μm , B 200 μm , C 50 μm); D đến F thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 11 (khung tỉ lệ: D 500 μm , E 200 μm , F 50 μm); G đến I thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 12 (khung tỉ lệ: G 500 μm , H 200 μm , I 50 μm); và J đến L thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2 (khung tỉ lệ: J 500 μm , K 200 μm , L 50 μm).

FIG.7 thể hiện các hình ảnh nhuộm mô miễn dịch thể hiện các kết quả đánh giá các mức biểu hiện của DSP mà là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu cho nguyên bào tạo răng và BSP là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu cho nguyên bào xương ở các mô giống với ngà răng/tủy răng mà được sinh ra *in vivo* trong 12 tuần sau khi ghép các mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A và E thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy đối chứng chỉ bao

gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP; B và F thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 11; C và G thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 12; và D và H thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2. Các mũi tên của A, B, C và D chỉ báo các miền biểu thị DSP ở các mô giống ngà răng mới được tạo ra, và các đầu mũi tên của E, F, G và H chỉ báo các miền biểu thị BSP ở các mô giống với xương mới được tạo ra. Khung tỉ lệ là 50 μm .

FIG.8 thể hiện việc quét các hình ảnh rất nhỏ về các cấu trúc bên trong của các mô giống với ngà răng/tủy răng mà được sinh ra *in vivo* ở 12 tuần sau khi ghép các mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A và B là các kết quả ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỉ lệ: A 50 μm , B 20 μm); C và D là các kết quả ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 12 (SEQ ID NO: 96) (khung tỉ lệ: C 50 μm , D 20 μm); và E và F là các kết quả ở 12 tuần sau khi ghép mô cấy so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2 (khung tỉ lệ: E 50 μm , F 20 μm).

FIG.9 thể hiện các hình ảnh rất nhỏ và việc quét các hình ảnh rất nhỏ thể hiện các kết quả phân tích các mô giống với nguyên bào tạo răng/tủy răng mà được sinh ra sau khi ghép các mô cấy bao gồm các peptit theo sáng chế thành các khoảng trống ống chân răng của răng người, trong đó A và B thể hiện các kết quả của các aaaa được ghép mô cấy đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỉ lệ: A 500 μm , B 50 μm); C, D và D' thể hiện các kết quả của các aaaa được ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 12 (SEQ ID NO: 96) (khung tỉ lệ: A 500 μm , B 50 μm); D là sự khuếch đại của hộp 1 trong C, D' là sự khuếch đại của hộp 2 trong C (khung tỉ lệ: C 500 μm , D 50 μm , D' 50 μm); E và F thể hiện việc quét các hình ảnh rất nhỏ về các mô được ghép mô cấy đối chứng bao gồm chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỉ lệ: E 50 μm , F 10 μm); G và H thể hiện việc quét các hình ảnh rất nhỏ về các mô được ghép mô cấy bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit của nhóm 12 (SEQ ID NO: 96) (khung tỉ lệ: G 50 μm ,

H 10 μm); P chỉ báo tủy răng được tái tạo, De chỉ báo thành ngà răng tồn tại, DT chỉ báo các ống nhỏ ngà răng tồn tại, Od chỉ báo các nguyên bào tạo răng, OP chỉ báo các quy trình nguyên bào tạo răng, và các mũi tên trong D chỉ báo các tế bào giống với nguyên vào tạo răng được tái tạo bằng các quy trình nguyên bào tạo răng.

FIG.10 thể hiện các hình ảnh rất nhỏ của phép phân tích mô học về các tác dụng của các peptit mới đối với sự hình thành ngà răng (ngà thứ ba) về mặt sinh lý ở mô hình khoang nông trong số các mô hình răng lạnh chụp tủy không trực tiếp, trong đó A đến C là các hình ảnh rất nhỏ thể hiện kết quả của nhóm đối chứng, trong đó không một vật liệu nào được áp dụng cho cửa dẫn vào ống nhỏ tủy răng ở ngà răng hở (khung tỉ lệ: A 500 μm , B 100 μm , C 50 μm); D đến F là các hình ảnh rất nhỏ thể hiện kết quả của việc áp dụng peptit của nhóm 11 (1,5 μg) vào cửa dẫn vào ống nhỏ tủy răng ở ngà răng hở (khung tỉ lệ: D 500 μm , E 100 μm , F 50 μm); và G đến I là các hình ảnh rất nhỏ thể hiện kết quả của việc áp dụng peptit của nhóm 12 (1,5 μg) vào cửa dẫn vào ống nhỏ tủy răng ở ngà răng hở (khung tỉ lệ: G 500 μm , H 100 μm , I 50 μm). P chỉ báo tủy răng, D chỉ báo ngà răng, và TD chỉ báo ngà (thứ ba) sinh lý mới hình thành.

FIG.11 thể hiện các hình ảnh rất nhỏ của phép phân tích mô học về các tác dụng của các peptit mới đối với sự hình thành ngà răng (ngà thứ ba) sinh lý học ở mô hình khoang sâu trong số các mô hình răng lạnh chụp tủy không trực tiếp, trong đó A đến C là các hình ảnh rất nhỏ thể hiện kết quả của nhóm đối chứng, trong đó cửa dẫn vào ống nhỏ tủy răng ở ngà răng hở được điều trị không dùng vật liệu và được trám vật liệu phục hồi răng, bột hàn răng GI (khung tỉ lệ: A 500 μm , B 100 μm , C 50 μm); D đến F là các hình ảnh rất nhỏ thể hiện kết quả của việc trám cửa dẫn vào ống nhỏ tủy răng ở ngà răng hở bằng bột hàn răng GI sau khi được điều trị bằng peptit của nhóm 11 (1,5 μg) (khung tỉ lệ: D 500 μm , E 100 μm , F 50 μm); và G đến I là các hình ảnh rất nhỏ thể hiện các kết quả của việc trám cửa dẫn vào ống nhỏ tủy răng ở ngà răng hở bằng bột hàn răng GI sau khi được điều trị bằng peptit của nhóm 12 (1,5 μg) (khung tỉ lệ: G 500 μm , H 100 μm , I 50 μm). P chỉ báo tủy răng, D chỉ báo ngà răng, và TD chỉ báo ngà (thứ ba) sinh lý mới hình thành.

FIG.12 thể hiện các hình ảnh rất nhỏ của phép phân tích mô học về các tác dụng của các peptit mới đối với sự hình thành ngà răng (ngà thứ ba) sinh lý học ở các mô hình chụp tủy trực tiếp, trong đó A đến C là các hình ảnh rất nhỏ thể hiện kết quả của nhóm đối chứng mà được điều trị không dùng vật liệu và sau đó được điều trị bằng bột hàn răng GI (khung tỉ lệ: A 200 μm , B 100 μm , C 50 μm); D đến F là các hình ảnh rất nhỏ thể hiện kết quả của nhóm đối chứng tích cực mà được điều trị không dùng vật liệu, được bịt kín bằng MTA, và sau đó được phủ lớp bột hàn răng GI (khung tỉ lệ: D 500 μm , E 200 μm , F 50 μm); G đến I là các hình ảnh rất nhỏ thể hiện kết quả của các nhóm mà được điều trị bằng peptit của nhóm 11 (1,5 μg), được bịt kín bằng MTA, và sau đó được phủ bột hàn răng GI (khung tỉ lệ: G 200 μm , H 100 μm , I 50 μm); J đến L là các hình ảnh rất nhỏ thể hiện các kết quả của các nhóm mà được điều trị bằng peptit của nhóm 12 (1,5 μg), bịt kín bằng MTA, và sau đó phủ bột hàn răng GI (khung tỉ lệ: J 500 μm , K 100 μm , L 50 μm). D chỉ báo ngà răng, OD chỉ báo chất xương răng, và TD chỉ báo ngà (thứ ba) sinh lý mới hình thành.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các tác giả sáng chế đã thực hiện nhiều nghiên cứu để phát triển tác nhân có khả năng điều trị hiệu quả hơn các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng, và kết quả là, họ đã phát triển peptit mới bao gồm 10 axit amin.

Peptit mới được phát triển được tạo ra bằng cách thay thế một phần chuỗi axit amin của peptit mà có thể có tác dụng điều trị đối với các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng, và peptit mới được phát triển được xác nhận là có thể làm tăng các mức biểu hiện của các gen DSPp, Dmp1 và Nestin mà là gen đánh dấu quá trình biệt hóa của các nguyên bào tạo răng, nhờ đó thể hiện tác dụng thúc đẩy sự tái tạo ngà răng mà không có bất kỳ độc tính tế bào nào đối với các tế bào tủy răng.

Ngoài ra, mô cấy bao gồm peptit cùng với các tế bào tủy răng được tạo ra, và mô cấy tạo ra được ghép vào mô dưới da của chuột bị gây suy giảm khả năng miễn dịch, và sau 6 tuần đến 12 tuần, mô ghép được phân tích. Kết quả, phát hiện thấy rằng mô giống với ngà răng/tủy răng có hình thái học tương tự nhất với mô ngà răng/tủy răng *in vivo* đã được hình thành, mức độ sản sinh của collagen được tăng lên, mức biểu hiện của DSP mà là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu cho nguyên bào tạo răng

được tăng lên, trong khi đó mức biểu hiện của BSP mà là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu cho nguyên bào xương lại không tăng lên đáng kể.

Hơn thế nữa, hình thái học của mô đã ghép được kiểm tra bằng kính hiển vi điện tử quét, và kết quả là, các tế bào giống với nguyên bào tạo răng thể hiện sự bố trí dạng hàng rào trên thành răng sẵn có, và các mỗm bào tương của chúng, với nhân kéo dài, mở rộng về phía các ống ngà răng sẵn có.

Các tác dụng của peptit ở các mô hình răng nanh bites trực tiếp và gián tiếp được kiểm tra, và kết quả là, ngà răng sinh lý giống như được thấy ở ngà răng tự nhiên của người được hình thành bởi peptit mới.

Do đó, có thể thấy rằng peptit theo sáng chế có thể có các tác dụng thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc tủy răng và điều trị quá cảm ngà răng. Cho đến nay, peptit theo sáng chế có các tác dụng này chưa bao giờ được bộc lộ, và nó được phát triển lần đầu tiên bởi các tác giả sáng chế.

Theo một khía cạnh để đạt được các mục đích nêu trên, sáng chế đề xuất peptit thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc tủy răng và điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng, peptit bao gồm chuỗi axit amin có công thức 1 sau đây:

K-Y-R1-R2-R3-R4-R5-R6-R7-R8 (công thức 1)

trong đó R1 là arginin (R), lysin (K) hoặc glutamin (Q);

R2 là arginin (R) hoặc glutamin (Q);

R3, R4, và R5 lần lượt là arginin (R) hoặc lysin (K);

R6 là asparagin (N) hoặc serin (S); và

R7 và R8 lần lượt là lysin (K) hoặc tyrosin (Y).

Thuật ngữ “ngà răng”, như được sử dụng ở đây, cũng được gọi là ngà, và chỉ mô cứng màu trắng hơi vàng mà tạo thành phần chủ yếu của răng. Ngà răng không bị lộ ra trên bề mặt của răng vì nó được phủ lớp men ở mào răng và lớp xương răng ở chân răng. Tuy nhiên, sự lộ ra của ngà răng có thể xảy ra ở ở đầu đỉnh hoặc mặt nhai của mào răng vì lớp men mòn dần theo sự lão hóa. Ngà răng là một loại mô xương, nhưng nó khác biệt với mô xương thông thường ở chỗ các phần thân tế bào của ngà răng nằm ở tủy răng trong khi đó các mỗm của chúng mở rộng đến các ống ngà.

Thuật ngữ “mô tủy răng”, như được sử dụng ở đây, còn được gọi là “tủy răng”, và chỉ mô liên kết mềm nằm ở khoang tủy bên trong răng. Về phương diện giải phẫu, tủy răng có rất nhiều dây thần kinh và các mạch máu được phân bố ở đó, và nó mở rộng đến mặt ngoài của ngà răng.

Peptit theo sáng chế khác biệt ở chỗ nó có thể làm tăng các mức biểu hiện của các gen DSPp, Dmp1 và Nestin mà là gen đánh dấu quá trình biệt hóa của các nguyên bào tạo răng mà không có độc tính tế bào, và khi peptit được ghép cùng với các tế bào tủy răng, các tế bào tủy răng hình thành mô giống với ngà răng/tủy răng.

Peptit theo sáng chế bao gồm các biến thể peptit của chúng có chuỗi gồm một hoặc nhiều gốc axit amin khác với các gốc axit amin của chuỗi axit amin của peptit theo sáng chế, miễn là nó có thể thúc đẩy sự tái tạo ngà răng hoặc tủy răng và có tác dụng điều trị đối với các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng.

Các trao đổi axit amin ở các protein và polypeptit, mà thường không làm thay đổi hoạt tính phân tử, được biết trong lĩnh vực này. Các trao đổi xảy ra phổ biến nhất là các gốc axit amin Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Thy/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, Asp/Gly, theo cả hai hướng. Peptit có thể bao gồm các peptit mà đã cải thiện tính ổn định cấu trúc đối với nhiệt, pH, v.v., hoặc cải thiện khả năng thúc đẩy sự tái tạo ngà răng hoặc tủy răng do sự thay đổi hoặc biến đổi của chuỗi axit amin.

Ví dụ, mặc dù glutamin mà là axit amin có tính axit ở vị trí 3 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 của sáng chế được thế bằng axit amin có tính bazơ, lysin hoặc arginin, nhưng vẫn có thể thu được nguyên trạng các tác dụng của peptit theo sáng chế; mặc dù arginin mà là axit amin có tính bazơ ở vị trí 4 hoặc 5 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 được thế bằng glutamin của axit amin có tính axit hoặc lysin của axit amin có tính bazơ, nhưng vẫn có thể thu được nguyên trạng các tác dụng của peptit của sáng chế; mặc dù lysin mà là axit amin có tính bazơ ở vị trí 6, 7, hoặc 9 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 được thế bằng arginin của axit amin có tính bazơ hoặc tyrosin của axit amin thơm, nhưng vẫn có thể thu được nguyên trạng các tác dụng của peptit của sáng chế; mặc dù asparagin mà là axit amin có tính axit ở vị trí 8 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 được thế bằng serin của axit amin trung tính, nhưng vẫn có

thể thu được nguyên trạng các tác dụng của peptit của sáng chế; và mặc dù tyrosin mà là axit amin thơm ở vị trí 10 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 được thế bằng lysin của axit amin có tính bazơ, nhưng vẫn có thể thu được nguyên trạng các tác dụng của peptit của sáng chế.

Như vậy, mặc dù axit amin có tính axit, axit amin có tính bazơ, hoặc axit amin thơm cấu thành peptit theo sáng chế được thế bằng axit amin có các đặc tính giống nhau, hoặc được thế lần lượt bằng axit amin có tính axit, axit amin có tính bazơ, axit amin trung tính, hoặc axit amin thơm, nhưng vẫn có thể thu được nguyên trạng các tác dụng của peptit của sáng chế. Do đó, rõ ràng là biến thể peptit có chuỗi bao gồm một hoặc nhiều gốc axit amin khác với các gốc axit amin của chuỗi axit amin cấu thành peptit theo sáng chế cũng được bao gồm trong phạm vi của peptit theo sáng chế.

Ngoài ra, mặc dù axit amin tùy ý được bổ sung vào ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của peptit của sáng chế, nhưng vẫn có thể thu được nguyên trạng các tác dụng của peptit của sáng chế. Do đó, peptit được điều chế bằng cách bổ sung axit amin tùy ý ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của peptit theo sáng chế cũng được bao gồm trong phạm vi của peptit theo sáng chế. Ví dụ, peptit được điều chế bằng cách bổ sung 1 đến 300 axit amin vào ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của peptit theo sáng chế có thể được minh họa ví dụ, cho một ví dụ khác, peptit được điều chế bằng cách bổ sung 1 đến 100 axit amin ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của peptit theo sáng chế có thể được lấy làm ví dụ, và một ví dụ khác nữa, peptit được điều chế bằng cách bổ sung 1 đến 24 axit amin ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của peptit theo sáng chế có thể được lấy làm ví dụ.

Peptit theo sáng chế có thể được biến đổi hoặc bảo vệ về mặt hóa học bằng một nhóm hữu cơ ở đầu tận cùng N và/hoặc đầu tận cùng C, hoặc có thể được biến đổi bằng cách bổ sung axit amin ở đầu tận cùng C của peptit để bảo vệ peptit khỏi proteaza *in vivo* và để làm tăng tính ổn định của nó. Cụ thể, vì các peptit được tổng hợp theo cách hóa học có đầu tận cùng N và đầu tận cùng C mang điện tích, nên việc axetyl hóa đầu tận cùng N, metyl hóa đầu tận cùng N, hoặc/và amit hóa đầu tận cùng C có thể được thực hiện, hoặc việc đưa vào axit D-amino, biến đổi liên kết peptit như $\text{CH}_2\text{-NH}$, $\text{CH}_2\text{-S}$, $\text{CH}_2\text{-S=O}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$, biến đổi khung sườn, hoặc biến đổi mạch bên có thể cũng

được bao gồm để loại bỏ điện tích, nhưng không chỉ giới hạn ở đó. Các phương pháp điều chế các hợp chất peptidomimetic được biết đến rộng rãi trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ, tham khảo nội dung mô tả trong tài liệu Quantitative Drug Design, C.A. Ramsden Gd., Choplin Pergamon Press (1992).

Thuật ngữ “biến đổi khung sườn”, như được sử dụng ở đây, chỉ sự biến đổi trực tiếp của axit amin cấu thành khung sườn peptit với các axit amin tương tự, trong đó khung sườn (mạch chính) chỉ khung có dạng mạch chính hoặc hình vòng của axit amin cấu thành peptit. Axit amin tương tự chỉ axit amin được biến đổi bằng cách thế các nguyên tử hydro ở nitơ hoặc α -cacbon của khung sườn axit amin.

Thuật ngữ “biến đổi mạch bên”, như được sử dụng ở đây, chỉ sự biến đổi của các mạch bên của axit amin bằng cách sử dụng chất hóa học, trong đó các mạch bên của axit amin chỉ các nhóm nguyên tử được phân nhánh từ khung có dạng mạch chính hoặc dạng vòng của axit amin cấu thành peptit. Các ví dụ về peptit biến đổi mạch bên có thể bao gồm sự biến đổi nhóm amino như alkyl hóa khử; amit hóa bằng methyl axetimidat; alkyl hóa bằng anhydrit axetic; carbamyl hóa các nhóm amino với xyanat; trinitrobenzyl hóa axit amin với axit 2,4,6-trinitrobenzen sulfonic (TNBS); alkyl hóa các nhóm amino với anhydrit succinic; và pyridoxyl hóa với pyridoxal-5-phosphat tiếp đó là khử bằng NaBH_4 .

Ngoài ra, peptit theo sáng chế có thể được sử dụng riêng lẻ, hoặc kết hợp với các chất mang khác nhau được phê duyệt làm thuốc, như dung môi hữu cơ. Để cải thiện tính ổn định và hiệu quả, peptit theo sáng chế có thể cũng được sử dụng bằng cách bao gồm các hydrat cacbon như glucoza, sucroza, hoặc dextran, các chất chống oxy hóa như axit ascorbic hoặc glutathion, các tác nhân tạo chelat hóa, các protein trọng lượng phân tử thấp, các chất làm ổn định khác, v.v..

Theo một phương án của sáng chế, 96 loại peptit tương ứng với công thức 1 của sáng chế được tổng hợp, và các tác dụng của các peptit tổng hợp lên mức biểu hiện của gen DSPp mà là gen đánh dấu quá trình biệt hóa nguyên bào tạo răng được kiểm tra. Kết quả là, tất cả các mức mRNA của gen Dspp đánh dấu quá trình biệt hóa nguyên bào tạo răng trong các tế bào MDPC-23 mà được điều trị bằng 96 loại peptit được khẳng định là cao hơn 1,3 lần so với mức mRNA của gen Dspp mà được đo

trong các tế bào MDPC-23 (nhóm đối chứng) không được điều trị peptit theo sáng chế (Các bảng 13 đến 24).

Như được bộc lộ cho đến nay, biết rằng vì mức mARN của DSPP được tăng lên, nên sự biệt hóa nguyên bào tạo răng và sự tái tạo ngà răng được thúc đẩy, và do đó, có thể thấy rằng 96 loại peptit thể hiện tác dụng làm tăng mức mARN của gen DSPp có thể có tác dụng thúc đẩy quá trình biệt hóa nguyên bào tạo răng và sự tái tạo ngà răng (Taduru Sreenath et al., THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Vol. 278, No. 27, Issue of July 4, pp. 24874-24880, 2003; William T. Butler et al, Connective Tissue Research, 44(Suppl. 1): 171-178, 2003).

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

Polynucleotit có thể được biến đổi bằng cách thế, xóa bỏ, hoặc chèn một hoặc nhiều bazơ, hoặc tổ hợp của chúng. Khi chuỗi nucleotit được điều chế bằng cách tổng hợp hóa học, thì phương pháp tổng hợp được biết đến rộng rãi trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ, phương pháp mô tả trong tài liệu chuyên ngành (Engels and Uhlmann, Angew Chem IntEd Engl., 37:73-127, 1988) có thể được sử dụng, và chuỗi nucleotit có thể được tổng hợp bằng các phương pháp trieste, phosphit, phosphoramidit và H-phosphat, phương pháp PCR và các phương pháp môi tự động khác, tổng hợp oligonucleotit trên các vật đỡ rắn, v.v.. Ví dụ, polynucleotit mã hóa peptit theo sáng chế có thể bao gồm chuỗi nucleotit có trình tự SEQ ID NO: 4.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất vector biểu thị bao gồm polynucleotit, tế bào biến nạp bao gồm vector biểu thị, và phương pháp điều chế peptit bằng cách sử dụng tế bào biến nạp.

Thuật ngữ “vector biểu thị”, như được sử dụng ở đây, chỉ vector tái tổ hợp có khả năng biểu thị peptit đích ở tế bào chủ, và chỉ cấu trúc di truyền bao gồm các yếu tố điều hòa thiết yếu được liên kết hoạt động để biểu hiện một đoạn chèn gen. Vector biểu hiện bao gồm các trình tự điều hòa sự biểu hiện như bộ ba khởi đầu, bộ ba kết thúc, gen khởi động, gen điều khiển, v.v.. Bộ ba khởi đầu và bộ ba kết thúc thường được coi là một phần của chuỗi nucleotit mã hóa polypeptit và cần thiết để có chức năng ở cá thể mà đã sử dụng cấu trúc di truyền, và phải trong khung với trình tự mã hóa. Gen khởi động của vector có thể là cơ định hoặc cảm ứng được.

Thuật ngữ “được liên kết hoạt động”, như được sử dụng ở đây, chỉ liên kết chức năng giữa chuỗi điều khiển sự biểu hiện axit nucleic và chuỗi nucleotit mã hóa protein hoặc ARN đích theo cách thức cho phép các chức năng chung. Ví dụ, gen khởi động có thể được liên kết hoạt động với chuỗi nucleotit mã hóa protein hoặc ARN để tác động đến sự biểu hiện của trình tự mã hóa. Liên kết hoạt động được này với vector biểu hiện có thể được tạo ra bằng cách sử dụng kỹ thuật tái tổ hợp di truyền đã biết trong lĩnh vực này, và sự phân cắt và nối ADN đặc hiệu vị trí có thể được tiến hành bằng cách sử dụng các enzym thường được biết đến trong lĩnh vực này.

Ngoài ra, vector biểu hiện có thể bao gồm các chuỗi tín hiệu chỉ báo mức độ tiết ra của peptit để đẩy nhanh sự phân lập peptit khỏi môi trường nuôi cấy tế bào. Các tín hiệu khởi đầu đặc hiệu cũng có thể là cần thiết cho sự dịch mã hiệu quả của các trình tự nucleotit được chèn. Các tín hiệu này bao gồm bộ ba khởi đầu ATG và các trình tự liền kề. Trong một số trường hợp, các tín hiệu kiểm soát dịch mã ngoại sinh, bao gồm bộ ba khởi đầu ATG, cần được cung cấp. Tín hiệu kiểm soát dịch mã ngoại sinh và bộ ba khởi đầu này có thể có nhiều nguồn gốc, cả nguồn gốc tự nhiên và tổng hợp. Hiệu quả của biểu hiện có thể được tăng cường bằng cách đưa vào các yếu tố tăng cường phiên mã hoặc dịch mã phù hợp.

Ngoài ra, vector biểu hiện có thể còn bao gồm thẻ protein mà có thể được loại bỏ tùy ý bằng endopeptidaza để hỗ trợ cho việc phát hiện peptit.

Thuật ngữ “thẻ”, như được sử dụng ở đây, chỉ phân tử có hoạt tính hoặc đặc tính định lượng. Thẻ này có thể bao gồm các phân tử huỳnh quang bao gồm các chất huỳnh quang hóa học như fluorescein và chất huỳnh quang polypeptit như protein huỳnh quang màu xanh lá (Green fluorescent protein - GFP) hoặc các protein liên quan; và các thẻ epitop như thẻ Myc, thẻ Flag, thẻ His, thẻ leuxin, thẻ IgG, thẻ streptavidin, v.v. Cụ thể, nếu thẻ epitop được sử dụng, thì thẻ peptit gồm có 6 gốc axit amin hoặc nhiều hơn, và tốt hơn nữa là, khoảng 8 đến 50 gốc axit amin có thể được sử dụng.

Theo sáng chế, vector biểu hiện có thể bao gồm chuỗi nucleotit mã hóa peptit nêu trên để thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc tủy răng và điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng của sáng chế. Vector được sử dụng ở đây không bị giới hạn cụ thể,

miễn là nó có thể sản xuất peptit. Tốt hơn là, vector có thể là ADN plasmit, AND thực khuẩn thể, v.v.. Tốt hơn nữa là, vector có thể là plasmit phát triển thương mại (pUC18, pBAD, pIDTSAMRT-AMP, v.v.), plasmit tạo ra từ *E. coli* (pYG601BR322, pBR325, pUC118, pUC119, v.v.), plasmit tạo ra từ *Bacillus subtilis* (pUB110, pTP5, v.v.), plasmit tạo ra từ nấm men (YEp13, YEp24, YCp50, v.v.), ADN thực thể khuẩn (Charon4A, Charon21A, EMBL3, EMBL4, λ gt10, λ gt11, λ ZAP, v.v.), vector virus động vật (retrovirus, adenovirus, virus đậu mùa, v.v.), virus côn trùng (baculovirus, v.v.), hoặc tương tự. Đối với vector biểu hiện, tốt hơn nếu tế bào chủ phù hợp nhất cho việc sử dụng dự tính được chọn và sử dụng, vì mức biểu hiện và sự biến đổi của protein thay đổi tùy thuộc vào loại tế bào chủ.

Tế bào biến nạp theo sáng chế có thể được tạo ra bằng cách biến nạp vật chủ với vector biểu hiện theo sáng chế, và tế bào biến nạp có thể biểu hiện polynucleotit trong vector biểu hiện, nhờ đó sản sinh ra peptit. Quá trình biến nạp có thể được thực hiện bằng các phương pháp khác nhau. Phương pháp biến nạp không bị giới hạn cụ thể, miễn là nó có thể sản sinh ra peptit. Có thể sử dụng kết tủa CaCl_2 , phương pháp Hanahan mà là phương pháp kết tủa CaCl_2 cải tiến bằng cách sử dụng DMSO (dimethyl sulfoxit) làm tác nhân khử, phương pháp xung điện, kết tủa canxi phosphat, dung hợp tế bào nguyên sinh, khuấy trộn sử dụng sợi silicon cacbua, biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*, biến nạp qua trung gian PEG, biến nạp qua trung gian dextran sulfat, lipofectamin hoặc khử nước/ức chế, v.v.. Vật chủ được sử dụng trong quá trình tạo ra tế bào biến nạp không bị giới hạn cụ thể, miễn là nó có thể sản xuất peptit theo sáng chế. Vật chủ có thể là tế bào vi khuẩn như *E. coli*, *Streptomyces*, *Salmonella typhimuri*, v.v.; tế bào nấm men như *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, v.v.; tế bào nấm như *Pichia pastoris*, v.v.; tế bào côn trùng như các tế bào *Drosophila*, *Spodoptera Sf9*, v.v.; tế bào động vật như các tế bào CHO, COS, NSO, 293, Bowes melanoma, v.v.; và các tế bào thực vật.

Tế bào biến nạp có thể được sử dụng trong phương pháp sản xuất peptit để thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc tủy răng và điều trị quá cảm ngà răng theo sáng chế. Cụ thể là, phương pháp sản xuất peptit để thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc tủy răng và điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng của sáng chế có thể bao gồm (a)

nuôi cấy tế bào biến nạp để thu được mẻ nuôi cấy; và (b) thu hồi peptit theo sáng chế từ mẻ nuôi cấy.

Thuật ngữ “nuôi cấy”, như được sử dụng ở đây, chỉ phương pháp cho phép vi sinh vật phát triển dưới các điều kiện môi trường được kiểm soát nhân tạo. Theo sáng chế, phương pháp nuôi cấy tế bào biến nạp có thể được thực hiện bởi phương pháp được biết đến rộng rãi trong lĩnh vực này. Cụ thể là, việc nuôi cấy không bị giới hạn cụ thể, miễn là nó có thể biểu hiện và sản xuất peptit thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc tủy răng và điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng của sáng chế, và việc nuôi cấy có thể được thực hiện bằng quy trình từng mẻ, quy trình theo mẻ bổ sung, hoặc quy trình theo mẻ bổ sung lặp lại.

Môi trường sử dụng trong việc nuôi cấy bao gồm các nguồn cacbon, các nguồn nitơ, axit amin, các vitamin thích hợp v.v. và phải đáp ứng các yêu cầu của chủng cụ thể theo cách thức phù hợp trong khi điều chỉnh nhiệt độ, độ pH, v.v. trong các điều kiện hiếu khí. Các nguồn cacbon áp dụng có thể bao gồm, ngoài hỗn hợp đường gồm glucoza và xyloza dưới dạng nguồn cacbon chính, các đường và hydrat cacbon như sucroza, lactoza, fructoza, maltoza, tinh bột, và xenluloza, dầu và mỡ như dầu đậu nành, dầu hướng dương, dầu thầu dầu, dầu dừa, v.v., các axit béo như axit palmitic, axit stearic, hoặc axit linoleic, các rượu như glyxerol hoặc etanol, và các axit hữu cơ như axit axetic. Các chất này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp. Các nguồn nitơ phù hợp có thể bao gồm các nguồn nitơ vô cơ như amoniac, amoni sulfat, amoni clorua, amoni axetat, amoni phosphat, amoni carbonat, hoặc amoni nitrat; axit amin như axit glutamic, methionin, hoặc glutamin; và nguồn nitơ hữu cơ như pepton, NZ-amin, chất chiết từ thịt, cao nấm men, phần chiết mạch nha, chất lỏng ngâm ngô, casein hydrolysat, bột cá hoặc các sản phẩm tiêu hóa của chúng, bánh đậu tương đã khử béo hoặc các sản phẩm tiêu hóa của chúng, v.v.. Các nguồn nitơ này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp. Môi trường có thể bao gồm, dưới dạng các nguồn phospho, kali phosphat monobazơ, kali phosphat dibazơ, và các muối chứa natri tương ứng. Các nguồn phospho áp dụng có thể bao gồm kali dihydro phosphat, dikali hydro phosphat, hoặc các muối chứa natri tương ứng. Ngoài ra, các hợp chất vô cơ có thể bao gồm natri clorua, canxi clorua, sắt clorua, magiê sulfat, sắt sulfat, mangan sulfat

và canxi cacbonat. Ngoài các chất trên đây, các chất phát triển cơ bản như axit amin và vitamin có thể được sử dụng.

Hơn nữa, các tiền chất phù hợp có thể được sử dụng trong môi trường nuôi cấy. Trong suốt quá trình nuôi cấy, các chất nêu trên có thể được bổ sung phù hợp vào môi trường nuôi cấy theo cách thức từng mẻ, từng mẻ có bổ sung dinh dưỡng, hoặc liên tục, nhưng không bị giới hạn ở các cách thức này. Độ pH của môi trường nuôi cấy có thể được điều chỉnh bằng cách sử dụng một cách phù hợp hợp chất bazơ như natri hydroxit, kali hydroxit, hoặc amoniac, hoặc hợp chất có tính axit như axit phosphoric hoặc axit sulfuric.

Ngoài ra, sự hình thành bọt có thể bị ức chế bằng cách sử dụng tác nhân chống tạo bọt như este polyglycol của axit béo. Để duy trì trạng thái hiếu khí, oxy hoặc khí chứa oxy (ví dụ không khí) có thể được bơm vào môi trường nuôi cấy. Nhiệt độ của môi trường nuôi cấy thông thường nằm trong khoảng từ 27°C đến 37°C, tốt hơn là từ 30°C đến 35°C. Tiếp tục nuôi cấy cho đến khi thu được mức độ sản xuất peptit mong muốn. Việc này được đạt được trong vòng 10 giờ đến 100 giờ.

Ngoài ra, việc thu hồi peptit từ môi trường nuôi cấy có thể được thực hiện bằng phương pháp được biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Cụ thể là, phương pháp thu hồi này không bị giới hạn cụ thể, nếu nó có thể thu hồi peptit được sản xuất. Tốt hơn là, phương pháp như ly tâm, lọc, tách chiết, phun, làm khô, làm bay hơi, kết tủa, kết tinh hóa, điện di, hòa tan một phần (ví dụ kết tủa amoni sulfat), sắc ký (ví dụ trao đổi ion, ái lực, kỵ nước, và phân tách theo kích thước), v.v. có thể được sử dụng.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất được phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ngà răng hoặc tủy răng bao gồm peptit.

Như nêu trên đây, khi peptit thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc tủy răng và điều trị quá cảm ngà răng của sáng chế được ghép vào cơ thể, cùng với các tế bào tủy răng, thì sự hình thành mô giống với ngà răng/tủy răng bằng các tế bào tủy răng có thể được thúc đẩy, và khi peptit được dùng cho vị trí ngà răng hoặc tủy răng bị hư hỏng, ngà răng sinh lý giống như được thấy ở ngà răng tự nhiên của người có thể được hình thành. Do đó, peptit có thể được sử dụng dưới dạng thành phần hoạt tính của được

phẩm để điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng do sự hư hỏng ngà răng hoặc tủy răng gây ra.

Peptit bao gồm trong dược phẩm có thể được sử dụng ở dạng đơn nhất của peptit hoặc ở dạng polypeptit của 2 hoặc nhiều lần lặp lại peptit, và peptit có thể cũng được sử dụng ở dạng phức hợp của thuốc có tác dụng điều trị đối với các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng được liên kết ở đầu tận cùng N của đầu tận cùng C của peptit.

Thuật ngữ “các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng”, như được sử dụng ở đây, chỉ mọi bệnh gây ra bởi mô tủy răng và ngà răng bị hư hỏng liên quan tới tủy răng, do sự hư hỏng ngà răng và mô tủy răng.

Theo sáng chế, các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng không bị giới hạn cụ thể, miễn là peptit theo sáng chế có các tác dụng điều trị đối với bệnh, và các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng có thể bao gồm, ví dụ, quá cảm ngà răng, chứng sung huyết tủy răng, viêm tủy răng, sự thoái hóa tủy răng, hoại tử tủy răng, tủy răng thối hoại, v.v..

Thuật ngữ “ngăn ngừa”, như được sử dụng ở đây, có nghĩa là mọi hành động mà nhờ đó sự xuất hiện của các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng bị giới hạn hoặc làm trễ nhờ sử dụng dược phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng bao gồm peptit theo sáng chế.

Thuật ngữ “điều trị”, như được sử dụng ở đây, có nghĩa là mọi hành động mà theo đó các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng được điều trị bằng cách thúc đẩy sự tái tạo ngà răng hoặc tủy răng nhờ sử dụng dược phẩm bao gồm peptit theo sáng chế dưới dạng thành phần hoạt tính cho đối tượng đang cần điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng.

Dược phẩm của sáng chế có thể được bào chế ở dạng dược phẩm để điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng còn bao gồm, ngoài ra peptit, chất mang phù hợp (chất mang tự nhiên hoặc phi tự nhiên), tá dược, hoặc chất pha loãng thường được sử dụng trong quá trình bào chế dược phẩm. Cụ thể là, dược phẩm có thể được bào chế theo phương pháp thông thường ở dạng dung dịch bơm vô trùng mà có thể được sử dụng cho vị trí gây ra bệnh ngà răng hoặc tủy răng. Theo sáng chế, chất mang, tá dược, và chất pha loãng mà có thể được bao gồm trong dược phẩm có thể bao gồm lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, xylitol, erythritol, maltitol, tinh bột, cao su cây

keo, alginat, gelatin, canxi phosphat, canxi silicat, xenluloza, metylxenluloza, xenluloza vi tinh thể, polyvinylpyrrolidon, nước, metylhydroxybenzoat, propylhydroxybenzoat, bột talc, magie stearat, các dầu khoáng, collagen, v.v.. Ngay khi điều chế, các chất pha loãng hoặc tá dược thường được sử dụng như chất độn, chất kéo dài, chất gắn kết, tác nhân tạo ẩm, chất gây rã, chất hoạt động bề mặt, v.v. có thể được sử dụng. Cụ thể, dung dịch chứa nước tiệt trùng, dung môi không chứa nước, hỗn dịch, huyền phù, chế phẩm làm khô bởi đông lạnh, thuốc đạn, thuốc mỡ (ví dụ lớp bọc tủy răng, v.v.) có thể được bao gồm. Giống như các dung môi hoặc hỗn dịch không chứa nước, propylen glycol, polyetylen glycol, dầu thực vật như dầu ôliu, este có thể tiêm như etyl oleat, v.v. có thể được sử dụng. Giống như bazơ của thuốc đạn, witepsol, Macrogol, Tween 61, bơ cacao, chất béo laurin, glyxerogelatin, v.v. có thể được sử dụng.

Hàm lượng của peptit trong dược phẩm của sáng chế không bị giới hạn cụ thể, nhưng peptit có thể được bao gồm với lượng nằm trong khoảng từ 0,0001% trọng lượng đến 50% trọng lượng, tốt hơn nữa là, 0,01% trọng lượng đến 20% trọng lượng, tính trên tổng số tám chất của chế phẩm cuối.

Dược phẩm của sáng chế có thể được sử dụng với lượng hiệu quả chữa bệnh. Thuật ngữ “lượng hiệu quả chữa bệnh”, như được sử dụng ở đây, chỉ chỉ lượng vừa đủ để điều trị hoặc ngăn ngừa các bệnh, với tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý áp dụng cho phép điều trị hoặc ngăn ngừa y tế bất kỳ. Mức độ liều lượng hiệu quả có thể được xác định phụ thuộc vào các yếu tố bao gồm mức độ nghiêm trọng của bệnh, hoạt tính thuốc, độ tuổi của người bệnh, trọng lượng cơ thể, tình trạng sức khỏe, giới tính, mức độ nhạy cảm với thuốc, thời gian sử dụng, cách sử dụng, và tốc độ bài tiết của chế phẩm của sáng chế, thời gian điều trị, các thuốc được trộn với hoặc đồng sử dụng với chế phẩm theo sáng chế, và các yếu tố khác được biết trong lĩnh vực y tế. Dược phẩm của sáng chế có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp với dược phẩm đã biết để điều trị các bệnh ngà răng hoặc tủy răng. Cần sử dụng chế phẩm với lượng tối thiểu mà có thể có tác dụng tối đa mà không gây ra các tác dụng phụ, khi xem xét tất cả các yếu tố nêu trên.

Liều lượng sử dụng dược phẩm của sáng chế có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, theo mục đích sử dụng, mức độ nghiêm trọng của bệnh, độ tuổi của người bệnh, trọng lượng cơ thể, giới tính, và lịch sử điều trị, loại vật liệu được sử dụng làm thành phần hoạt tính, v.v.. Ví dụ, dược phẩm của sáng chế có thể được sử dụng với liều nằm trong khoảng từ 0,1 ng/kg đến 100 mg/kg, và tốt hơn là, khoảng từ 1 ng/kg đến 10 mg/kg trên mỗi người lớn, và tần số sử dụng chế phẩm của sáng chế không bị giới hạn cụ thể, nhưng chế phẩm có thể được sử dụng một lần một ngày hoặc một số lần một ngày với các liều được chia nhỏ. Liều sử dụng không làm giới hạn phạm vi của sáng chế theo mọi khía cạnh.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng, phương pháp này bao gồm bước sử dụng lượng hiệu quả chữa bệnh của dược phẩm cho đối tượng có các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng, không bao gồm người.

Thuật ngữ “đối tượng, như được sử dụng ở đây, có thể bao gồm các động vật có vú bao gồm chuột, gia súc, v.v. đang cần điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng mà không giới hạn, và con người bị loại trừ ra khỏi các đối tượng có các bệnh nêu trên.

Dược phẩm điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng của sáng chế có thể được sử dụng thông qua cách thông thường, miễn là dược phẩm có thể đến được mô đích. Dược phẩm có thể được sử dụng, nhưng không bị giới hạn cụ thể ở, thông qua việc sử dụng trong miệng, bơm vào trong miệng, v.v., tùy thuộc vào mục đích.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất chế phẩm giả dược để ngăn ngừa hoặc cải thiện các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng bao gồm peptit.

Thuật ngữ “cải thiện”, như được sử dụng ở đây, có nghĩa là các hành động mà ít nhất làm giảm thông số về tình trạng bệnh cần điều trị, ví dụ, mức độ triệu chứng.

Theo sáng chế, việc cải thiện sẽ được hiểu là mọi hành động nhờ đó các triệu chứng của các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng đã chuyển biến tốt hơn hoặc được biến đổi có lợi bằng cách thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc tủy răng nhờ sử dụng dược phẩm bao gồm peptit theo sáng chế dưới dạng thành phần hoạt tính cho đối tượng đang cần điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng.

Thuật ngữ “sản phẩm giả dược”, như được sử dụng ở đây, chỉ sản phẩm có tác động nhẹ hơn thuốc, trong số các sản phẩm được sử dụng nhằm mục đích chẩn đoán, điều trị, cải thiện, giảm nhẹ, xử lý, hoặc ngăn ngừa bệnh ở người hoặc động vật. Ví dụ, theo Luật thương mại dược phẩm, các sản phẩm giả dược là các sản phẩm, loại trừ sản phẩm dùng làm thuốc, bao gồm sản phẩm làm từ sợi hoặc cao su được sử dụng nhằm mục đích điều trị hoặc phòng ngừa các bệnh ở người hoặc động vật, các sản phẩm, chứ không phải là công cụ hoặc máy móc, hoặc vật tương tự của chúng, mà có tác dụng nhẹ đối với hoặc không có tác động trực tiếp đối với cơ thể người, và các sản phẩm được sử dụng nhằm mục đích khử trùng hoặc kiểm soát bệnh dịch hạch để ngăn ngừa các bệnh lây nhiễm.

Theo sáng chế, loại hoặc công thức điều chế của chế phẩm giả dược bao gồm peptit không bị giới hạn cụ thể, nhưng chế phẩm giả dược có thể là, ví dụ, nước súc miệng khử trùng dùng qua đường miệng, sản phẩm vệ sinh dùng qua đường miệng, thuốc đánh răng, chỉ nha khoa, thuốc mỡ dùng qua đường miệng, v.v..

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất thực phẩm chức năng để ngăn ngừa hoặc cải thiện các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng bao gồm peptit.

Thuật ngữ “thực phẩm”, như được sử dụng ở đây, bao gồm thịt, xúc xích, bánh mì, sôcôla, kẹo, đồ ăn nhẹ, bánh kẹo, bánh piza, mì ramen, các loại mì khác, kẹo gôm, các sản phẩm sữa bao gồm kem, xúp khác nhau, đồ uống, trà, thức uống, đồ uống có cồn, và các phức chất vitamin, thực phẩm chức năng tăng cường sức khỏe, thực phẩm tăng cường sức khỏe, v.v., và thực phẩm bao gồm tất cả các thực phẩm theo nghĩa thuật ngữ thông thường được chấp nhận.

Thuật ngữ “thực phẩm chức năng”, như được sử dụng ở đây, là thuật ngữ giống với thực phẩm dùng cho mục đích sức khỏe đặc biệt (FoSHU), và chỉ thực phẩm có các tác dụng y tế, chữa bệnh cao, được xử lý để thể hiện một cách hiệu quả chức năng điều biến sinh học cũng như cung cấp các dưỡng chất. Ở đây, thuật ngữ “chức năng” cho biết tác dụng hữu ích cho sức khỏe con người, như điều hòa các dưỡng chất cho cấu trúc và chức năng của cơ thể người, tác dụng sinh lý, v.v.. Thực phẩm của sáng chế có thể được điều chế theo phương pháp thường được sử dụng trong lĩnh vực này, và các nguyên liệu thô và thành phần thường được sử dụng trong lĩnh vực này có thể

được bổ sung vào ngay sau khi điều chế thực phẩm. Ngoài ra, công thức chế biến thực phẩm không bị giới hạn, miễn là công thức chế biến được chấp nhận làm thực phẩm. Chế phẩm thực phẩm theo sáng chế có thể điều chế dưới dạng nhiều công thức chế biến. Vì thực phẩm được dùng làm nguyên liệu thô, không giống với thuốc thông thường, nên chế phẩm thực phẩm không có các tác dụng phụ mà có thể xảy ra khi uống thuốc trong khoảng thời gian dài, và có thể có tính linh động tuyệt vời. Do đó, thực phẩm theo sáng chế có thể được uống dưới dạng chất bổ sung để thúc đẩy các tác dụng ngăn ngừa hoặc cải thiện các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng.

Thực phẩm tốt cho sức khỏe có nghĩa là thực phẩm có các tác dụng duy trì hoặc thúc đẩy một cách tích cực các tình trạng sức khỏe so với các thực phẩm thông thường, và thực phẩm bổ sung cho sức khỏe có nghĩa là thực phẩm để bổ sung sức khỏe. Nếu cần, thực phẩm chức năng tốt cho sức khỏe, thực phẩm tốt cho sức khỏe, và thực phẩm bổ sung sức khỏe có thể được sử dụng hoán đổi cho nhau.

Cụ thể là, thực phẩm chức năng tốt cho sức khỏe là thực phẩm được điều chế bằng cách bổ sung peptit theo sáng chế vào các nguyên liệu thực phẩm như đồ uống, trà, đồ gia vị, kẹo gôm, bánh kẹo, v.v., hoặc điều chế dưới dạng viên nang, bột, hỗn dịch, v.v.. Thực phẩm chức năng tốt cho sức khỏe có nghĩa là nó có tác dụng nhất định đối với sức khỏe khi được sử dụng, nhưng không giống với thuốc thông thường, thực phẩm chức năng tốt cho sức khỏe có ưu điểm là không có các tác dụng phụ mà có thể xảy ra khi uống thuốc trong khoảng thời gian dài, bởi vì nó sử dụng thực phẩm làm nguyên liệu thô.

Vì chế phẩm thực phẩm của sáng chế được ăn theo cách thông thường, nên chế phẩm thực phẩm được dự kiến thể hiện hiệu quả cao đối với việc ngăn ngừa hoặc cải thiện các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng, và do vậy nó có thể được áp dụng một cách rất hữu ích.

Chế phẩm thực phẩm có thể còn bao gồm chất mang sinh lý dụng. Một loại chất mang không bị giới hạn cụ thể. Mọi chất mang đều có thể được sử dụng, nếu nó được sử dụng thông thường trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Ngoài ra, chế phẩm thực phẩm có thể còn bao gồm các thành phần bổ sung thường được sử dụng trong các chế phẩm thực phẩm để cải thiện mùi vị, vị giác, thi

lực, v.v. Ví dụ, chế phẩm thực phẩm có thể bao gồm các vitamin A, C, D, E, B1, B2, B6, B12, niacin, biotin, folat, axit pantothenic, v.v.. Ngoài ra, chế phẩm thực phẩm có thể còn bao gồm các khoáng chất như Zn, Fe, Ca, Cr, Mg, Mn, Cu, v.v.. Ngoài ra, chế phẩm thực phẩm có thể còn bao gồm axit amin như lysin, tryptophan, xystein, valin, v.v.. Ngoài ra, chế phẩm thực phẩm có thể còn bao gồm các chất phụ gia thực phẩm, như các chất bảo quản (kali sorbat, natri benzoat, axit salicylic, natri dehydroaxetat, v.v.), các chất diệt khuẩn (bột tẩy trắng, bột tẩy trắng bậc cao, natri hypoclorit, v.v.), chất chống oxy hóa (butylhydroxyanisol (BHA), butylhydroxytoluen (BHT), v.v.), các tác nhân nhuộm màu (màu hắc ín, v.v.), các tác nhân phát triển màu (natri nitrit, v.v.), các tác nhân tẩy trắng (natri sulfit), các gia vị (mono-natri glutamat (MSG), v.v.), các chất làm ngọt (dulxin, xyclemat, sacarin, natri, v.v.), các hương vị (vanilin, lacton, v.v.), các tác nhân làm trương nở (phèn, kali D-bitartrat, v.v.), chất dinh dưỡng, các chất nhũ hóa, các chất làm dày (bột nhão kết dính), các tác nhân tạo màng, các tác nhân có gốc kẹo gôm, các tác nhân chống tạo bọt, các dung môi, các chất cải thiện, v.v.. Các chất phụ gia có thể được chọn và sử dụng với lượng phù hợp theo các loại thực phẩm.

Peptit theo sáng chế có thể được bổ sung vào như nguyên trạng, hoặc có thể được sử dụng cùng với các thực phẩm hoặc thành phần thực phẩm khác theo phương pháp thông thường, hoặc có thể được sử dụng cho phù hợp theo phương pháp thông thường. Các lượng trộn của thành phần hoạt tính có thể được xác định cho phù hợp tùy thuộc vào mục đích sử dụng (điều trị phòng bệnh, sức khỏe hoặc chữa bệnh). Nói chung, ngay khi sản xuất thực phẩm hoặc đồ uống, chế phẩm thực phẩm theo sáng chế có thể được bổ sung vào với lượng 50 phần trọng lượng trở xuống, cụ thể là 20 phần trọng lượng trở xuống, tính theo tổng trọng lượng của thực phẩm hoặc đồ uống. Tuy nhiên, khi dự tính tiêu thụ kéo dài nhằm mục đích sức khỏe và vệ sinh, thì chế phẩm thực phẩm có thể được bao gồm với lượng thấp hơn phạm vi trên đây. Ngoài ra, do có không có vấn đề về an toàn, nên thành phần hoạt tính có thể được sử dụng với lượng lớn hơn phạm vi trên đây.

Chế phẩm thực phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng, ví dụ, chế phẩm đồ uống tốt cho sức khỏe, và trong trường hợp này, chế phẩm đồ uống tốt cho sức khỏe có thể còn bao gồm các hương vị khác nhau hoặc hydrat cacbon tự nhiên,

như trong các đồ uống thông thường. Hydrat cacbon tự nhiên có thể bao gồm monosacarit như glucoza và fructoza; disacarit như maltoza và sucroza; polysacarit như dextrin và xyclodextrin; và đường có năng lượng thấp như xylitol, sorbitol và erythritol. Các chất làm ngọt có thể các chất làm ngọt tự nhiên như thaumatin hoặc chất chiết xuất stevia; hoặc các chất làm ngọt tổng hợp như sacarin hoặc aspartam. Hydrat cacbon tự nhiên có thể được sử dụng thông thường với lượng nằm trong khoảng từ 0,01g đến 0,04g, và cụ thể là, nằm trong khoảng từ 0,02g đến 0,03g, tính theo 100mL chế phẩm đồ uống tốt cho sức khỏe theo sáng chế.

Ngoài ra, chế phẩm đồ uống tốt cho sức khỏe có thể bao gồm các dưỡng chất khác nhau, vitamin, khoáng chất, hương vị, chất nhuộm màu, axit pectic và các muối của chúng, axit alginic và các muối của chúng, axit hữu cơ, chất làm đặc dạng keo bảo vệ, chất điều chỉnh độ pH, chất làm ổn định, chất khử trùng, glyxerin, rượu, tác nhân carbonat hóa, v.v.. Hơn nữa, chế phẩm đồ uống tốt cho sức khỏe có thể bao gồm hoa quả tươi dùng để điều chế các nước hoa quả tự nhiên, đồ uống nước hoa quả, hoặc đồ uống rau củ. Các thành phần này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp. Tỷ lệ phần trăm của các chất phụ gia là không giới hạn, nhưng thông thường được chọn từ 0,01 phần trọng lượng đến 0,1 phần trọng lượng trên 100 phần trọng lượng của chế phẩm đồ uống tốt cho sức khỏe theo sáng chế.

Chế phẩm thực phẩm theo sáng chế có thể bao gồm peptit theo sáng chế tính theo % trọng lượng, nếu nó có thể có tác dụng ngăn ngừa hoặc cải thiện các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng. Cụ thể là, peptit theo sáng chế có thể được bao gồm với lượng nằm trong khoảng từ 0,00001% trọng lượng đến 100% trọng lượng hoặc 0,01% trọng lượng đến 80% trọng lượng, tính theo tổng trọng lượng của chế phẩm thực phẩm, nhưng không chỉ giới hạn ở đó.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng, phương pháp này bao gồm bước sử dụng chế phẩm bao gồm peptit cho đối tượng.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp thúc đẩy sự tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng, phương pháp này bao gồm bước sử dụng chế phẩm bao gồm peptit cho đối tượng.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất sử dụng peptit bao gồm chuỗi axit amin có công thức 1 sau đây hoặc chế phẩm bao gồm peptit trong việc thúc đẩy sự tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng, trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị quá cảm ngà răng, và trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng:

K-Y-R1-R2-R3-R4-R5-R6-R7-R8 (công thức 1)

trong đó R1 là arginin (R), lysin (K) hoặc glutamin (Q);

R2 là arginin (R) hoặc glutamin (Q);

R3, R4, và R5 lần lượt là arginin (R) hoặc lysin (K);

R6 là asparagin (N) hoặc serin (S); và

R7 và R8 lần lượt là lysin (K) hoặc tyrosin (Y).

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất sử dụng peptit bao gồm chuỗi axit amin bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 1 đến 96 hoặc chế phẩm bao gồm peptit trong việc thúc đẩy sự tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng, trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị quá cảm ngà răng, và trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết có tham chiếu đến các ví dụ. Tuy nhiên, các ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa, và phạm vi của sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ này.

Ví dụ 1: Tổng hợp các peptit thúc đẩy sự tạo ngà răng hoặc các mô tủy răng và điều trị quá cảm ngà răng

Các tác giả sáng chế đã tổng hợp peptit (SEQ ID NO: 1) thể hiện tác dụng thúc đẩy sự tái tạo ngà răng hoặc các mô tủy răng bằng phương pháp 9-florenylmetyloxycarbonyl (Fmoc), và họ đã tổng hợp các peptit thuộc các nhóm tương ứng (Các bảng 1 đến 12) bằng cách thay thế các axit amin của peptit tổng hợp được.

N-KYQRRKKNKY-C (SEQ ID NO: 1)

Đầu tiên, các peptit thuộc nhóm 1 được tổng hợp bằng cách sử dụng peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 hoặc bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin (Bảng 1).

Bảng 1

Các peptit thuộc nhóm 1

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
1	KYQRRKKNKY
2	KYQRRKRNKY
3	KYQRRRRKNKY
4	KYQRRRRRNKY
5	KYQRKKKNKY
6	KYQRKRKNKY
7	KYQRKKRNKY
8	KYQRKRRNKY

Tiếp theo, các peptit thuộc nhóm 2 được tổng hợp bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin hoặc bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 8 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng serin (Bảng 2).

Bảng 2

Các peptit thuộc nhóm 2

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
9	KYQRRKKSKY
10	KYQRRKRISKY
11	KYQRRRRISKY
12	KYQRRRRRSKY
13	KYQRKKKISKY
14	KYQRKRKISKY
15	KYQRKKRISKY
16	KYQRKRRISKY

Tiếp theo, các peptit thuộc nhóm 3 được tổng hợp bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin

hoặc bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 9 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng tyrosin (Bảng 3).

Bảng 3

Các peptit thuộc nhóm 3

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
17	KYQRRKKNYK
18	KYQRRKRNYK
19	KYQRRRKNYK
20	KYQRRRRNYK
21	KYQRKKKKNYK
22	KYQRKRKNYK
23	KYQRKKRNYK
24	KYQRKRRNYK

Tiếp theo, các peptit thuộc nhóm 4 được tổng hợp bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 8 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng serin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 9 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng tyrosin, hoặc bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 10 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin (Bảng 4).

Bảng 4

Các peptit thuộc nhóm 4

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
25	KYQRRKKSYK
26	KYQRRKRSYK
27	KYQRRRKSYK
28	KYQRRRRSYK
29	KYQRKKKSYK
30	KYQRKRKSYK
31	KYQRKKRSYK

32	KYQRKRRSYK
----	------------

Tiếp theo, các peptit thuộc nhóm 5 được tổng hợp bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 3 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng arginin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 4 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng glutamin, hoặc bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin (Bảng 5).

Bảng 5

Các peptit thuộc nhóm 5

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
33	KYRQRKKNKY
34	KYRQRKRKNKY
35	KYRQRRKNKY
36	KYRQRRRNKY
37	KYRQKKKNKY
38	KYRQKRKNKY
39	KYRQKKRNKY
40	KYRQKRRNKY

Tiếp theo, các peptit thuộc nhóm 6 được tổng hợp bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 3 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng arginin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 4 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng glutamin, bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin, hoặc bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 8 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng serin (Bảng 6).

Bảng 6

Các peptit thuộc nhóm 6

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
41	KYRQRKKSKY
42	KYRQRKRSKY
43	KYRQRRKSKY

44	KYRQRRRSKY
45	KYRQKKKSKY
46	KYRQKRKSKY
47	KYRQKKRSKY
48	KYRQKRRSKY

Tiếp theo, các peptit thuộc nhóm 7 được tổng hợp bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 3 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng arginin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 4 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng glutamin, bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 9 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng tyrosin, hoặc bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 10 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin (Bảng 7).

Bảng 7

Các peptit thuộc nhóm 7

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
49	KYRQRKKNYK
50	KYRQKRKNYK
51	KYRQRRKNYK
52	KYRQRRRKNYK
53	KYRQKKKNYK
54	KYRQKRKNYK
55	KYRQKKRKNYK
56	KYRQKRRKNYK

Tiếp theo, các peptit thuộc nhóm 8 được tổng hợp bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 3 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng arginin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 4 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng glutamin, bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 8 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng serin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 9 của peptit có trình tự SEQ ID NO:

1 bằng tyrosin, hoặc bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 10 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin (Bảng 8).

Bảng 8

Các peptit thuộc nhóm 8

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
57	KYRQRKKSYK
58	KYRQRKRSYK
59	KYRQRRKSYK
60	KYRQRRRSYK
61	KYRQKKKSYK
62	KYRQKRKSYK
63	KYRQKKRSYK
64	KYRQKRRSYK

Tiếp theo, các peptit thuộc nhóm 9 được tổng hợp bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 3 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 4 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng glutamin, hoặc bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin (Bảng 9).

Bảng 9

Các peptit thuộc nhóm 9

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
65	KYKQRKKNKY
66	KYKQRKRNKY
67	KYKQRRKNKY
68	KYKQRRRNKY
69	KYKQKKKNKY
70	KYKQKRKNKY
71	KYKQKKRNKY
72	KYKQKRRNKY

Tiếp theo, các peptit thuộc nhóm 10 được tổng hợp bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 3 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 4 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng glutamin, bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin, hoặc bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 8 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng serin (Bảng 10).

Bảng 10

Các peptit thuộc nhóm 10

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
73	KYKQRKKSKY
74	KYKQRKRSKY
75	KYKQRRKSKY
76	KYKQRRRSKY
77	KYKQKKKSKY
78	KYKQKRKSKY
79	KYKQKKRSKY
80	KYKQKRRSKY

Tiếp theo, các peptit thuộc nhóm 11 được tổng hợp bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 3 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 4 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng glutamin, bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 9 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng tyrosin, hoặc bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 10 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin (Bảng 11).

Bảng 11

Các peptit thuộc nhóm 11

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
81	KYKQRKKNYK
82	KYKQRKRNYK

83	KYKQRRKNYK
84	KYKQRRRNYK
85	KYKQKKKNYK
86	KYKQKRKNYK
87	KYKQKKRNYK
88	KYKQKRKNYK

Sau cùng, các peptit thuộc nhóm 12 được tổng hợp bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 3 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 4 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng glutamin, bằng cách thay thế axit amin bất kỳ ở các vị trí 5 đến 7 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin hoặc arginin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 8 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng serin, bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 9 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng tyrosin, hoặc bằng cách thay thế axit amin ở vị trí 10 của peptit có trình tự SEQ ID NO: 1 bằng lysin (Bảng 12).

Bảng 12

Các peptit thuộc nhóm 12

SEQ ID NO:	Trình tự axit amin (N-C)
89	KYKQRKKSYK
90	KYKQRKRSYK
91	KYKQRRKSYK
92	KYKQRRRSYK
93	KYKQKKKSYK
94	KYKQKRKSYK
95	KYKQKKRSYK
96	KYKQKRRSYK

Ví dụ 2: Khảo sát hiệu quả của các peptit thúc đẩy sự tái tạo ngà răng hoặc các mô tủy răng và điều trị quá cảm ngà răng bằng cách sử dụng các nguyên bào tạo ngà răng

Ví dụ 2-1: Tác dụng của các peptit thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc các mô tủy răng và điều trị quá cảm ngà răng trên hoạt tính của gen khởi động DSPP (sialophosphoprotein của ngà răng)

Đầu tiên, các tế bào MDPC-23 là các nguyên bào tạo ngà răng có nguồn gốc từ chuột được nuôi cấy trong môi trường DMED được bổ sung 10% FBS trong điều kiện 5% CO₂ và 37°C.

Tiếp theo, các tế bào MDPC-23 nuôi cấy được cấy lên đĩa 24 giếng ở mật độ là 5×10^4 tế bào trên mỗi giếng, và nuôi cấy trong 24 giờ. Sau đó, các tế bào nuôi cấy được chuyển nhiễm bằng vector tái tổ hợp được tạo ra bằng cách đưa gen khởi động DSPP và gen luxiferaza vào vector pGL3, bằng cách sử dụng chất phản ứng Lipofectamine Plus™. Các tế bào MDPC-23 được chuyển nhiễm lần lượt được xử lý bằng các peptit thuộc các nhóm 1 đến 12 đã tổng hợp trong Ví dụ 1 và nuôi cấy trong 48 giờ. Hoạt tính luxiferaza trong mỗi trong số các tế bào MDPC-23 được chuyển nhiễm được đo, và các mức trung bình tính được của các nhóm tương ứng được so sánh với nhau (FIG.1A). Về mặt này, các tế bào MDPC-23 được chuyển nhiễm mà không được xử lý bằng các peptit theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng.

FIG.1A là đồ thị thể hiện các kết quả so sánh Tác dụng của các peptit thuộc các nhóm tương ứng theo sáng chế lên sự biểu hiện của DSPP là gen đánh dấu quá trình biệt hóa của nguyên bào tạo ngà răng. Như được thể hiện trên FIG.1A, mức hoạt tính luxiferaza tổng thể của các peptit tương ứng theo sáng chế là cao hơn khoảng 1,3 lần so với mức của nhóm đối chứng, nhưng có sự chênh lệch giữa các nhóm. Xác nhận rằng các peptit thuộc nhóm 12 thể hiện mức hoạt tính luxiferaza cao nhất, và các peptit thuộc nhóm 11 thể hiện mức hoạt tính luxiferaza cao thứ nhì.

Do đó, có thể thấy rằng các peptit theo sáng chế thể hiện hiệu quả hoạt hóa gen khởi động Dspp.

Ví dụ 2-2: Tác dụng của các peptit thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc các mô tủy răng và điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng lên mức biểu hiện của gen DSPP đánh dấu quá trình biệt hóa nguyên bào tạo ngà răng

Các tế bào MDPC-23 được nuôi cấy trong Ví dụ 2-1 được xử lý bằng các peptit thuộc các nhóm tương ứng mà được tổng hợp trong Ví dụ 1, và nuôi cấy trong 48 giờ.

Sau đó, các mức mARN của gen DSPP đánh dấu quá trình biệt hóa nguyên bào tạo ngà răng được biểu hiện trong các tế bào MDPC-23 được đo, và tỉ lệ của mức mARN Dspp đo được so với mức mARN Dspp đo được ở nhóm đối chứng lần lượt được tính (Các bảng 13 đến 24). Hơn nữa, các giá trị trung bình của các mức mARN Dspp đo được ở các peptit thuộc các nhóm tương ứng được so sánh giữa các nhóm (FIG.1B). Về mặt này, các tế bào MDPC-23 mà không được xử lý bằng các peptit theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng.

Các mức biểu hiện của gen Dspp được đo bằng Phân tích RT-PCR và PCR thời gian thực: Chi tiết, ARN tổng được chiết xuất từ các tế bào MDPC-23 bằng chất phản ứng TRIzol. 2 µg ARN tổng, 1 µl enzym phiên mã ngược, và 0,5 µg oligo (dT) được sử dụng để tổng hợp cADN. cADN tổng hợp được sử dụng trong phản ứng chuỗi polymeraza thời gian thực. Phản ứng chuỗi polymeraza thời gian thực được thực hiện trên hệ thống phát hiện trình tự ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems) sử dụng các môi sau và hỗn hợp enzym trộn sẵn SYBR GREEN PCR (Takara, Nhật). Phản ứng chuỗi polymeraza thời gian thực được thực hiện trong điều kiện 94°C, 1 phút; 95°C, 15 giây - 60°C, 34 giây trong 40 chu kỳ. Các kết quả được phân tích bằng phương pháp ngưỡng chu kỳ so sánh (cycle threshold - CT). Về mặt này, gen Gapdh được sử dụng làm nội đối chứng. Các thử nghiệm được thực hiện trong ba lần lặp, và sau đó các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của chúng được lấy làm giá trị đo được.

Dspp_R: 5'-CTGTTGCTAGTGGTGTCTGTT-3'(SEQ ID NO: 97)

Dmp1_F: 5'-CATTCTCCTTGTGTTCCTTTGGG-3'(SEQ ID NO: 98)

Gapdh_F: 5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTG-3'(SEQ ID NO: 99)

Gapdh_R: 5'-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3'(SEQ ID NO: 100)

Bảng 13

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 1 trên mức mARN của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mARN của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
1	1,754	0,132
2	1,646	0,092

3	1,464	0,221
4	1.855	0,102
5	1,639	0,057
6	1,746	0,091
7	1.864	0,132
8	1,639	0,032

Bảng 14

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 2 trên mức mARN của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mARN của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
9	1.854	0,032
10	1,746	0,052
11	1,639	0,201
12	1,548	0,027
13	1,685	0,077
14	1.846	0,141
15	1.964	0,279
16	1,739	0,092

Bảng 15

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 3 trên mức mARN của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mARN của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
17	2,117	0,209
18	2,319	0,092
19	1.931	0,102
20	2,553	0,099
21	1.893	0,132

22	2,412	0,072
23	2,171	0,281
24	2,212	0,111

Bảng 16

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 4 trên mức mRNA của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mRNA của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
25	2,371	0,089
26	2,193	0,052
27	1.993	0,202
28	2,453	0,192
29	1.883	0,101
30	2,512	0,209
31	2,371	0,139
32	2,219	0,302

Bảng 17

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 5 trên mức mRNA của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mRNA của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
33	1,712	0,091
34	1.931	0,172
35	1.983	0,102
36	2,319	0,292
37	1,597	0,301
38	2,116	0,211
39	1,712	0,191
40	2,219	0,212

Bảng 18

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 6 trên mức mRNA của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mRNA của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
41	1,546	0,091
42	1,586	0,103
43	1,669	0,095
44	1,793	0,203
45	1,532	0,310
46	1.887	0,077
47	1,697	0,009
48	1,558	0,201

Bảng 19

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 7 trên mức mRNA của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mRNA của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
49	1.923	0,192
50	1.887	0,007
51	1,601	0,082
52	2,019	0,135
53	1,592	0,222
54	1,437	0,341
55	1,663	0,094
56	1,701	0,109

Bảng 20

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 8 trên mức mRNA của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mARN của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
57	2,039	0,082
58	1.998	0,172
59	1,792	0,007
60	2,107	0,201
61	2,301	0,019
62	1,672	0,308
63	1,769	0,085
64	1.967	0,039

Bảng 21

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 9 trên mức mARN của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mARN của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
65	1,723	0,072
66	1,627	0,291
67	1,777	0,027
68	1,432	0,410
69	2,011	0,081
70	1.927	0,105
71	1.879	0,060
72	2,011	0,009

Bảng 22

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 10 trên mức mARN của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mARN của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
73	2,035	0,021

74	2,011	0,063
75	1.997	0,059
76	2,351	0,109
77	1,729	0,111
78	2,635	0,091
79	2,231	0,077
80	1.837	0,201

Bảng 23

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 11 trên mức mARN của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mARN của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
81	3,092	0,152
82	3,361	0,098
83	3,572	0,209
84	3,702	0,301
85	3,670	0,088
86	3,705	0,137
87	3.888	0,072
88	4,021	0,301

Bảng 24

Tác dụng của các peptit thuộc nhóm 12 trên mức mARN của gen Dspp

SEQ ID NO:	mức mARN của gen Dspp	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn
89	4,211	0,413
90	4.811	0,302
91	4,362	0,182
92	4,211	0,287

93	4,525	0,250
94	3.836	0,099
95	4,620	0,401
96	5,211	0,371

Như được thể hiện trên Các bảng 13 đến 24, khi các peptit theo sáng chế được xử lý, các mức mARN tổng thể của gen Dspp là gen đánh dấu quá trình biệt hóa của nguyên bào tạo ngà răng là cao hơn 1,3 lần so với mức mARN của gen Dspp đo được ở các tế bào MDPC-23 (đối chứng) không được điều trị bằng các peptit theo sáng chế.

Cụ thể, tất cả các peptit thuộc nhóm 11 thể hiện các mức mARN Dspp cao hơn gấp 3 lần và tất cả các peptit thuộc nhóm 12 thể hiện các mức mARN Dspp cao hơn gấp 3,8 lần, so với nhóm đối chứng.

Ngoài ra, FIG.1B là đồ thị thể hiện các kết quả so sánh các mức biểu hiện của gen DSPP đánh dấu quá trình biệt hóa nguyên bào tạo ngà răng ở các tế bào MDPC-23 được xử lý bằng các peptit theo sáng chế. Như được thể hiện trên FIG.1B, khi các peptit theo sáng chế được xử lý, các mức mARN của gen DSPP đánh dấu quá trình biệt hóa nguyên bào tạo ngà răng được tăng lên, và tương tự với các mức trên FIG.1A, các mức mARN cao hơn 1,3 lần so với mức mARN Dspp đo được ở nhóm đối chứng.

Ví dụ 2-3: Tác dụng của các peptit thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc các mô tủy răng và điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng lên các mức biểu hiện của các gen đánh dấu quá trình biệt hóa của nguyên bào tạo ngà răng, Dspp, Dmp1 và Nestin

Các kết quả của Ví dụ 2-2 thể hiện rằng các peptit theo sáng chế có thể làm tăng mức mARN của Dspp, và cụ thể, các peptit thuộc nhóm 11 và Nhóm 12 có thể làm tăng mức mARN của Dspp ít nhất ba lần hoặc cao hơn.

Theo đó, đã nghiên cứu liệu các peptit thuộc nhóm 11 và Nhóm 12 có thể làm tăng các mức mARN của các gen đánh dấu quá trình biệt hóa của nguyên bào tạo ngà răng khác, Dmp1 và Nestin, hay không.

Vấn đề là, các thử nghiệm đã được thực hiện theo cách giống như trong Ví dụ 2-2, ngoại trừ việc các môi sau được sử dụng và các peptit thuộc nhóm 11 và Nhóm

12 được sử dụng làm các peptit. Tác dụng của các peptit theo sáng chế lên các mức biểu hiện của các gen Dmp1 và Nestin được đo, và các giá trị trung bình tính được được so sánh giữa các nhóm (FIG.1C). Về mặt này, các tế bào MDPC-23 mà không được xử lý bằng các peptit theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng, và mức mARN của gen Dspp được sử dụng làm nhóm so sánh.

Dmp1_F: 5'-CATTCTCCTTGTGTTTCCTTTGGG-3'(SEQ ID NO: 101)

Dmp1_R: 5'-TGTGGTCACTATTTGCCTGTG-3'(SEQ ID NO: 102)

Nestin_F: 5'-CCCTGAAGTCGAGGAGCTG-3'(SEQ ID NO: 103)

Nestin_R: 5'-CTGCTGCACCTCTAAGCGA-3'(SEQ ID NO: 104)

FIG.1C là đồ thị thể hiện các kết quả so sánh các mức biểu hiện của các gen đánh dấu quá trình biệt hóa của nguyên bào tạo ngà răng, Dspp, Dmp1 và Nestin ở các tế bào MDPC-23 được xử lý bằng các peptit thuộc nhóm 11 và Nhóm 12 theo sáng chế. Như được thể hiện trên FIG.1C, khi các peptit theo sáng chế được xử lý, tất cả các mức mARN của các gen đánh dấu quá trình biệt hóa của nguyên bào tạo ngà răng, Dspp, Dmp1 và Nestin được tăng lên, và có sự chênh lệch ở các mức tăng giữa các gen. Các mức biểu hiện được làm tăng bởi các peptit thuộc nhóm 12 là cao hơn các mức biểu hiện được làm tăng bởi các peptit thuộc nhóm 11.

Các gen đánh dấu quá trình biệt hóa trên được biết là các gen tham gia vào quá trình biệt hóa nguyên bào tạo men và quá trình khoáng hóa ngà răng điều này suy ra rằng các peptit theo sáng chế có thể có tác dụng thúc đẩy sự tái tạo ngà răng.

Ví dụ 2-4: Kiểm tra độc tính tế bào của các peptit thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc các mô tủy răng và điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng ở các tế bào tủy răng

Đầu tiên, các tế bào tủy răng người được tách từ răng khôn của 10 người lớn (18-22 tuổi) ở Trường Nha khoa, Đại học quốc gia Seoul. Chi tiết, tất cả các thử nghiệm đã được thực hiện sau khi có sự chấp thuận của Hội đồng thẩm định cơ sở (Institutional Review Board) và sự đồng thuận được thông báo từ người bệnh. Răng khôn được làm gãy theo phương pháp của Jung HS et al. (J Mol Histol.(2011)) để lộ ra tủy răng, và các mô tủy răng được tách bằng kẹp. Mỗi trong số các mô tủy răng được cắt thành các mảnh nhỏ bằng dao cạo, đặt trong đĩa 60-mm, phủ bằng kính dày,

và sau đó được nuôi cấy trong môi trường DMEM để thu được tế bào tủy răng nuôi cấy.

Tiếp theo, tế bào tủy răng thu được được cấy lên đĩa 96 giếng ở mật độ là 3×10^3 tế bào trên mỗi giếng, và nuôi cấy trong 24 giờ. Sau đó, các tế bào được xử lý bằng peptit thuộc nhóm 11 hoặc 12 ở nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$ hoặc 50 $\mu\text{g/ml}$, và nuôi cấy thêm trong 1 ngày, 3 ngày, hoặc 5 ngày. Sau khi hoàn thành nuôi cấy, các tế bào nuôi cấy được rửa bằng PBS, 20 μl dung dịch MTT được bổ sung vào đó, và được cho phản ứng ở 37°C trong 4 giờ. Sau khi hoàn thành phản ứng, dung dịch MTT được loại bỏ, và 100 μl DMSO được bổ sung vào đó, và độ hấp thụ ở 540 nm được đo (FIG.1D). Về mặt này, các tế bào tủy răng mà được nuôi cấy không có xử lý peptit được sử dụng làm nhóm đối chứng.

FIG.1D là đồ thị thể hiện các kết quả đánh giá độc tính tế bào của các peptit theo sáng chế lên các tế bào tủy răng. Như được thể hiện trên FIG.1D, mặc dù các peptit theo sáng chế được xử lý, các tế bào tủy răng thể hiện cùng mức khả năng sống như nhóm đối chứng.

Ví dụ 3: Tác dụng của các peptit thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc các mô tủy răng và điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng lên sự hình thành mô giống ngà răng/tủy răng *in vivo*

Ví dụ 3-1: Phân tích hình thái học của các mô cấy có nguồn gốc từ động vật được nuôi trong 6 tuần

100 mg chất thay thế ngà răng được bổ sung vào 2×10^6 tế bào tủy răng, và trộn với 0,5% fibrin gel để tạo ra mô cấy. Về mặt này, bột gồm hydroxy apatit/tricanxi phosphat (HA/TCP) (Zimmer, Mỹ) được sử dụng làm chất thay thế ngà răng, và fibrin gel được điều chế bằng cách cho vào 10 μg peptit thuộc nhóm 11 (SEQ ID NO: 87), peptit thuộc nhóm 12 (SEQ ID NO: 96), hoặc 2 μg BMP-2. Mô ghép được điều chế được cấy vào mô dưới da của chuột không được gây miễn dịch (NIH-bg-nu-xid; Harlan Laboratories, Indianapolis, Ấn Độ), và các con chuột được nuôi trong 6 tuần. Sau đó, mô giống ngà răng/tủy răng tạo thành từ mô ghép này được lấy ra. Mô được lấy ra này được cố định trên paraformaldehyt 4%, làm mất canxi trong EDTA 10% (pH 7,4), nhúng vào parafin, và nhuộm bằng hematoxylin-eosin (H-E) (Vector Labs)

để đánh giá các mức mô giống ngà răng/tủy răng (FIG.2). Về mặt này, mô ghép không chứa các peptit theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng.

FIG.2 thể hiện ảnh kính hiển vi của mô giống ngà răng/tủy răng mà được hình thành *in vivo* trong 6 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A đến C là ảnh kính hiển vi lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỷ lệ: A 200 μm , B 100 μm , C 50 μm); D đến F là ảnh kính hiển vi lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 11 (khung tỷ lệ: D 200 μm , E 100 μm , F 50 μm); G đến I là ảnh kính hiển vi lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 12 (khung tỷ lệ: G 200 μm , H 100 μm , I 50 μm); và J đến L là ảnh kính hiển vi lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2 (khung tỷ lệ: J 200 μm , K 100 μm , L 50 μm).

Như được thể hiện trên FIG.2, khi mô ghép bao gồm peptit theo sáng chế hoặc không được cấy (A đến I), sự hình thành mô giống ngà răng/tủy răng được quan sát ở ngoại biên của các hạt HA/TCP. Tuy nhiên, khi mô ghép so sánh bao gồm rhBMP-2 được cấy (J đến L), sự hình thành mô tạo khoáng giống xương và mô giống tủy xương được quan sát ở ngoại biên của các hạt HA/TCP.

Ngoài ra, mô giống ngà răng/tủy răng mà tương tự nhất với mô ngà răng-tủy răng *in vivo* được tạo ra ở mức tương đối cao khi cấy các mô ghép bao gồm các peptit theo sáng chế (D đến I), so với khi cấy các mô ghép không bao gồm các peptit theo sáng chế (A đến C).

Ví dụ 3-2: phân tích nhuộm collagen các mô cấy có nguồn gốc từ động vật được nuôi trong 6 tuần

Biết rằng collagen là cơ chất hữu cơ nhiều nhất ở ngà răng và xương, và cho phép sự lắng đọng khoáng đóng vai trò quan trọng trong quá trình tái tạo ngà răng.

Theo đó, để kiểm tra mức độ sản xuất collagen ở mỗi mô được lấy ra trong Ví dụ 3-1, các mô này được đưa vào quá trình nhuộm collagen (Nhuộm Trichrome của Masson) bằng cách sử dụng kit nhuộm Trichrom của Masson (Cat. 25088-100) của

Polysciences (FIG.3). Về mặt này, mô được cấy bằng mô ghép không bao gồm các peptit theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng.

FIG.3 thể hiện ảnh kính hiển vi của các mức sản xuất collagen ở mô giống ngà răng/tủy răng mà được hình thành *in vivo* trong 6 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A đến C thể hiện các kết quả lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỷ lệ: A 500 μm , B 200 μm , C 50 μm); D đến F thể hiện các kết quả lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 11 (khung tỷ lệ: D 500 μm , E 200 μm , F 50 μm); G đến I thể hiện các kết quả lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 12 (khung tỷ lệ: G 500 μm , H 200 μm , I 50 μm); và J đến L thể hiện các kết quả lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2 (khung tỷ lệ: J 500 μm , K 200 μm , L 50 μm).

Như được thể hiện trên FIG.3, việc cấy các mô ghép bao gồm các peptit theo sáng chế thể hiện các mức sản xuất collagen tăng, so với việc cấy mô ghép đối chứng.

Ví dụ 3-3: Phân tích nhuộm miễn dịch các mô được cấy có nguồn gốc từ động vật được nuôi trong 6 tuần

Để đánh giá các mức biểu hiện của DSP là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu nguyên bào tạo ngà răng và BSP là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu nguyên bào tạo xương ở mỗi trong số các mô được lấy ra trong Ví dụ 3-1, phân tích nhuộm miễn dịch được thực hiện.

Vấn tắt là, các mô lấy ra được cố định trên paraformaldehyt 4%, làm mất canxi trong EDTA 10% (pH 7,4), nhúng vào parafin, và sau đó nhuộm miễn dịch bằng kháng thể kháng DSP và kháng BSP ở độ pha loãng 1:150 làm các kháng thể sơ cấp, và cho phản ứng với IgG của dê kháng thể được đánh dấu bằng biotin (Vector Labs) làm kháng thể thứ cấp để xác định các mức DSP và BSP (FIG.4). Về mặt này, các mô được cấy ghép bằng mô ghép không bao gồm các peptit theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng.

FIG.4 thể hiện các hình ảnh nhuộm miễn dịch thể hiện các kết quả đánh giá các mức biểu hiện của DSP là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu nguyên bào tạo

ngà răng và BSP là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu nguyên bào tạo xương ở mô giống ngà răng/tủy răng mà được hình thành *in vivo* trong 6 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A và E thể hiện các kết quả lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP; B và F thể hiện các kết quả lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 11; C và G thể hiện các kết quả lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 12; và D và H thể hiện các kết quả lúc 6 tuần sau khi cấy mô ghép so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2, mũi tên của A, B, C và D chỉ các vùng biểu hiện DSP ở các mô giống ngà răng mới hình thành, và các đầu mũi tên E, F, G và H chỉ các vùng biểu hiện BSP ở các mô giống xương mới hình thành. Khung tỷ lệ là 50 μ m.

Như được thể hiện trên FIG.4, việc cấy mô ghép đối chứng thể hiện mức biểu hiện DSP thấp ở mô giống ngà răng/tủy răng mới hình thành (A), trong khi đó việc cấy ghép mô ghép bao gồm peptit thuộc nhóm 11 hoặc 12 thể hiện mức biểu hiện DSP tương đối cao ở mô khoáng hóa mới hình thành (B và C). Tuy nhiên, việc cấy ghép mô ghép bao gồm rhBMP2 thể hiện sự biểu hiện DSP nhỏ (D).

Hơn nữa, việc cấy mô ghép đối chứng (E), mô ghép (F) bao gồm peptit thuộc nhóm 11, hoặc mô ghép (G) bao gồm peptit thuộc nhóm 12 thể hiện mức biểu hiện BSP thấp ở mô khoáng hóa hình thành, trong khi đó việc cấy ghép mô ghép (H) bao gồm rhBMP2 thể hiện mức biểu hiện BSP tương đối rất cao ở mô khoáng hóa hình thành và các tế bào giống nguyên bào tạo xương bị bắt trong mô khoáng hóa này.

Ví dụ 3-4: Phân tích hình thái học các mô được cấy có nguồn gốc từ động vật được nuôi trong 12 tuần

Các mức của mô giống ngà răng/tủy răng được đánh giá theo cách giống như trong Ví dụ 3-1, ngoại trừ việc các con chuột được cấy mô ghép được nuôi trong 12 tuần (FIG.5).

FIG.5 thể hiện ảnh kính hiển vi của mô giống ngà răng/tủy răng mà được hình thành *in vivo* trong 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A đến C là ảnh kính hiển vi ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép

đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỷ lệ: A 500 μ m, B 200 μ m, C 50 μ m); D đến F là ảnh kính hiển vi ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 11 (khung tỷ lệ: D 500 μ m, E 200 μ m, F 50 μ m); G đến I là ảnh kính hiển vi ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 12 (khung tỷ lệ: G 500 μ m, H 200 μ m, I 50 μ m); và J đến L là ảnh kính hiển vi ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2 (khung tỷ lệ: J 500 μ m, K 200 μ m, L 50 μ m).

Như được thể hiện trên FIG.5, khi các con chuột được nuôi trong 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm peptit theo sáng chế hoặc không (A đến I), sự hình thành mô giống ngà răng/tủy răng và sự tiến triển của nguyên bào tạo ngà răng được quan sát ở ngoại biên của các hạt HA/TCP, giống ở các con chuột được nuôi trong 6 tuần sau khi cấy ghép. Tuy nhiên, khi mô ghép so sánh bao gồm rhBMP-2 được cấy (J đến L), sự hình thành mô giống xương và mô giống tủy xương với các tế bào bị bẫy bên trong cơ chất nền được quan sát ở ngoại biên của các hạt HA/TCP.

Ngoài ra, các nguyên bào tạo ngà răng và các phức ngà răng/tủy răng mà tương tự cao với các loại này *in vivo* được tạo ra khi cấy các mô ghép bao gồm các peptit theo sáng chế (D đến I), so với việc cấy các mô ghép không bao gồm các peptit theo sáng chế (A đến C).

Ví dụ 3-5: Phân tích nhuộm collagen các mô được cấy có nguồn gốc từ động vật được nuôi trong 12 tuần

Để kiểm tra mức sản xuất collagen ở mỗi mô được lấy ra trong Ví dụ 3-4, các mô này được đưa vào quá trình nhuộm collagen (Nhuộm Trichrome của Masson) bằng cách sử dụng kit nhuộm Trichrom của Masson (Cat. 25088-100) của Polysciences (FIG.3). Về mặt này, mô được cấy bằng mô ghép không bao gồm các peptit theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng.

FIG.6 thể hiện ảnh kính hiển vi của các mức sản xuất collagen ở mô giống ngà răng/tủy răng mà được hình thành *in vivo* trong 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A đến C thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP

(khung tỷ lệ: A 500 μm , B 200 μm , C 50 μm); D đến F thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 11 (khung tỷ lệ: D 500 μm , E 200 μm , F 50 μm); G đến I thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 12 (khung tỷ lệ: G 500 μm , H 200 μm , I 50 μm); và J đến L thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2 (khung tỷ lệ: J 500 μm , K 200 μm , L 50 μm).

Như được thể hiện trên FIG.6, các mức sản xuất collagen tăng được quan sát ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các peptit theo sáng chế, giống lúc 6 tuần sau khi cấy ghép của chúng, so với việc cấy mô ghép đối chứng.

Ví dụ 3-6: Phân tích nhuộm miễn dịch các mô được cấy có nguồn gốc từ động vật được nuôi trong 12 tuần

Phân tích nhuộm miễn dịch được thực hiện theo cách giống như trong Ví dụ 3-3, ngoại trừ việc các mô được lấy ra trong Ví dụ 3-4 được sử dụng thay vì các mô được lấy ra trong Ví dụ 3-1 (FIG.7). Về mặt này, mô được cấy bằng mô ghép không bao gồm các peptit theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng.

FIG.7 thể hiện hình ảnh nhuộm miễn dịch thể hiện Các kết quả đánh giá các mức biểu hiện của DSP là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu nguyên bào tạo ngà răng và BSP là gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu nguyên bào tạo xương ở mô giống ngà răng/tủy răng mà được hình thành *in vivo* trong 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A và E thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP; B và F thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 11; C và G thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 12; và D và H thể hiện các kết quả ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2, arrows of A, B, C và D chỉ báo các vùng biểu hiện DSP ở các mô giống ngà răng mới hình thành, và các đầu mũi tên E, F, G và H chỉ các vùng biểu hiện BSP ở các mô giống xương mới hình thành. Khung tỷ lệ là 50 μm .

Như được thể hiện trên FIG.7, các mức biểu hiện DSP thấp được quan sát ở mô giống ngà răng/tủy răng mới hình thành ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép đối chứng (A) hoặc mô ghép bao gồm rhBMP2 (D), trong khi đó các mức biểu hiện DSP tương đối rất cao được quan sát ở các mô khoáng hóa mới hình thành ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép (B và C) bao gồm peptit thuộc nhóm 11 hoặc 12, tương tự với lúc 6 tuần sau khi cấy ghép.

Hơn nữa, việc cấy mô ghép đối chứng (E), mô ghép (F) bao gồm peptit thuộc nhóm 11, hoặc mô ghép (G) bao gồm peptit thuộc nhóm 12 thể hiện mức biểu hiện BSP thấp ở mô khoáng hóa hình thành, trong khi đó việc cấy ghép mô ghép (H) bao gồm rhBMP2 thể hiện mức biểu hiện BSP tương đối rất cao ở mô khoáng hóa hình thành và các tế bào giống nguyên bào tạo xương bị bẫy trong mô khoáng hóa này.

Theo đó, có thể thấy rằng các peptit theo sáng chế có tác dụng thúc đẩy sự tái tạo phức ngà răng/tủy răng.

Ví dụ 3-7: Phân tích quá trình biệt hóa của mô được cấy ghép thành các nguyên bào tạo ngà răng

Kính hiển vi điện tử quét được sử dụng để kiểm tra liệu các tế bào tủy răng chứa trong mô ghép có được biệt hóa thành các nguyên bào tạo ngà răng ở các mô được lấy ra trong Ví dụ 3-4 (FIG.8). Về mặt này, mô được cấy ghép bằng mô ghép không bao gồm các peptit theo sáng chế được sử dụng làm nhóm đối chứng.

Vấn tắt là, mỗi mô được ngâm và cố định trong glutaraldehyt 2,5% /dung dịch đệm cacodylat 0,1M trong 30 phút, và mỗi mô được cố định này được ngâm và phản ứng trong dung dịch đệm cacodylat chứa 1% osimi tetroxit trong 1 giờ. Sau khi khử nước cho mô trong etanol và làm khô, mô được làm khô được phủ bằng vàng và quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét (S-4700, HITACHI, Tokyo, Nhật).

FIG.8 thể hiện ảnh kính hiển vi quét của cấu trúc bên trong của mô giống ngà răng/tủy răng mà được hình thành *in vivo* ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng và các thành phần khác, trong đó A và B là các kết quả ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỷ lệ: A 50 μ m, B 20 μ m); C và D là các kết quả ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 12 (SEQ ID NO: 96) (khung tỷ lệ: C

50 μm , D 20 μm); và E và F là các kết quả ở 12 tuần sau khi cấy mô ghép so sánh bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và rhBMP-2 (khung tỷ lệ: E 50 μm , F 20 μm).

Như được thể hiện trên FIG.8, khi mô ghép đối chứng (A và B) được cấy ghép, các tế bào giống nguyên bào tạo ngà răng có các mầm của nguyên bào tạo ngà răng được quan sát từng phần ở ngoại biên của mô cứng được hình thành, và khi các mô ghép (C và D) bao gồm các peptit theo sáng chế được cấy ghép, nhiều tế bào giống nguyên bào tạo ngà răng được quan sát ở ngoại biên của mô cứng được hình thành, và các mầm nguyên bào tạo ngà răng còn mở rộng về phía mô cứng được hình thành. Tuy nhiên, khi các mô ghép so sánh (E và F) bao gồm rhBMP-2 được cấy ghép, các tế bào hình khối được gắn vào bề mặt của mô cứng được hình thành được quan sát, chỉ ra các đặc tính tiêu biểu của các nguyên bào tạo ngà răng.

Do đó, có thể thấy rằng các peptit theo sáng chế giúp hình thành một cách hiệu quả hơn các nguyên bào tạo ngà răng.

Ví dụ 4: Tác dụng của các peptit thúc đẩy sự tái tạo của ngà răng hoặc các mô tủy răng và điều trị quá cảm ngà răng ở răng người

Theo báo cáo, thành ngà răng và khoang tủy rộng của răng tự nhiên là môi trường khu trú đặc hiệu để tái tạo mô giống ngà răng/tủy răng bởi các tế bào tủy răng (Huang GT, et al. (2010) Tissue engineering. Part A 16(2):605-615). Do đó, sự hình thành các mô giống ngà răng/tủy răng trong các khoảng trống ống chân răng được đánh giá.

Chi tiết, trong số các mô ghép được chuẩn bị trong Ví dụ 3-1, mô ghép so sánh hoặc mô ghép bao gồm peptit thuộc nhóm 12 (SEQ ID NO: 96) ở nồng độ 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ được cấy vào các khoảng trống ống chân răng của răng người trong 6 tuần, và mô giống ngà răng/tủy răng hình thành trong các mô ghép tương ứng được đưa vào nhuộm hematoxylin-eosin (H-E) theo phương pháp ở Ví dụ 3-1, và chụp ảnh bằng kính hiển vi điện tử quét theo phương pháp ở Ví dụ 3-7 (FIG.9).

FIG.9 thể hiện hình ảnh hiển vi và ảnh chụp hiển vi quét thể hiện các kết quả phân tích các nguyên bào tạo mô giống ngà răng/tủy răng mà được hình thành sau khi cấy mô ghép bao gồm các peptit theo sáng chế vào các khoảng trống ống chân răng của răng người, trong đó A và B thể hiện các kết quả nhuộm các mô được cấy ghép

bằng mô ghép đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng và HA/TCP (khung tỷ lệ: A 500 μ m, B 50 μ m); C, D và D' thể hiện các kết quả nhuộm các mô được cấy ghép bằng mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 12 (SEQ ID NO: 96) (khung tỷ lệ: A 500 μ m, B 50 μ m); D là hình ảnh khuếch đại của hộp 1 ở C, D' là hình ảnh khuếch đại của hộp 2 ở C (khung tỷ lệ: C 500 μ m, D 50 μ m, D' 50 μ m); E và F thể hiện ảnh kính hiển vi quét của mô được cấy ghép bằng mô ghép đối chứng chỉ bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP (khung tỷ lệ: E 50 μ m, F 10 μ m); G và H thể hiện ảnh kính hiển vi quét của mô được cấy ghép bằng mô ghép bao gồm các tế bào tủy răng, HA/TCP, và peptit thuộc nhóm 12 (SEQ ID NO: 96) (khung tỷ lệ: G 50 μ m, H 10 μ m); P chỉ ra tủy răng được tái tạo, De chỉ ra thành ngà răng đã có, DT chỉ ra các ống ngà răng đã có, Od chỉ ra các nguyên bào tạo ngà răng, OP chỉ ra các mỗm của nguyên bào tạo ngà răng, và các mũi tên ở D chỉ ra các tế bào giống nguyên bào tạo ngà răng được tái tạo với các mỗm của nguyên bào tạo ngà răng.

Như được thể hiện trên FIG.9, các mô giống tủy có mạch được hình thành bên trong tất cả các ống chân răng mà được cấy ghép bằng mô ghép đối chứng và mô ghép bao gồm peptit thuộc nhóm 12.

Tuy nhiên, khi mô ghép bao gồm peptit thuộc nhóm 12 theo sáng chế được cấy, các tế bào giống nguyên bào tạo ngà răng thể hiện sự bố trí dạng hàng rào trên thành ngà răng đã có, và các mỗm bào tương của chúng, với nhân kéo dài, mở rộng về phía các ống ngà răng đã có, và ngà răng mới hình thành được quan sát ở thành ngà răng đã có (C, D và D').

Cụ thể, như được thể hiện trên các ảnh hiển vi điện tử quét (E đến H), việc cấy các mô ghép (G và H) bao gồm peptit thuộc nhóm 12 thể hiện rằng các tế bào giống nguyên bào tạo ngà răng thể hiện sự bố trí dạng hàng rào trên thành ngà răng đã có, và các mỗm bào tương của chúng, với nhân kéo dài, mở rộng về phía các ống ngà răng đã có, so với việc cấy mô ghép đối chứng (E và F).

Ví dụ 5: Tác dụng của các peptit mới lên sự hình thành ngà răng sinh lý (ngà răng cấp ba) ở mô hình răng nanh chó bị kín tủy răng gián tiếp

Để kiểm tra tác dụng của các peptit mới lên sự hình thành ngà răng sinh lý (ngà răng cấp ba) ở các mô hình bít tủy răng gián tiếp, khả năng tái tạo ngà răng của chúng được đánh giá.

Chi tiết, để thiết lập mô hình răng nanh chó bị hỏng ngà răng bằng cách bít tủy răng gián tiếp, một phần của lớp men ở phần cổ răng được lấy ra khỏi răng tiền hàm của các con chó trưởng thành 12 tháng tuổi bằng cách sử dụng thiết bị khoan răng. Ngà răng được loại bỏ ở mức nông theo mức lộ của ngà răng để tạo khoang nông, nhờ đó thiết lập mô hình khoang nông. Ngà răng được loại bỏ sâu sao cho có thể nhìn thấy tủy răng xuyên qua đó, nhưng tủy răng không bị lộ ra ngoài, nhờ đó thiết lập mô hình khoang sâu. Các mô hình được xử lý bằng nhóm đối chứng, peptit thuộc nhóm 11, hoặc peptit thuộc nhóm 12. 3 tuần sau, các con chó trưởng thành được giết chết nhân đạo, và răng được lấy ra khỏi chúng.

Răng được lấy ra được cố định trên paraformaldehyt 4% trong 24 giờ, rửa bằng PBS (pH 7,4) vài lần, và sau đó làm mất canxi bằng axit formic 10%. Răng được làm mất canxi được nhúng vào parafin để tạo ra các phần mô. Các phần mô này được nhuộm bằng hematoxylin/eosin (H&E), và khả năng tái tạo ngà răng được đánh giá bằng cách phân tích mô học.

FIG.10 thể hiện ảnh kính hiển vi của phân tích mô học về tác dụng của các peptit mới lên sự hình thành ngà răng sinh lý (ngà răng cấp ba) ở mô hình khoang nông trong các mô hình chó bít tủy gián tiếp, trong đó A đến C là ảnh kính hiển vi thể hiện kết quả của nhóm đối chứng, trong đó không có vật liệu nào được đưa vào đầu vào của ống ngà răng ở ngà răng lộ ra (khung tỷ lệ: A 500 μm , B 100 μm , C 50 μm); D đến F là ảnh kính hiển vi thể hiện kết quả của việc dùng peptit thuộc nhóm 11 (1,5 μg) cho đầu vào của ống ngà răng ở ngà răng lộ ra (khung tỷ lệ: D 500 μm , E 100 μm , F 50 μm); và G đến I là ảnh kính hiển vi thể hiện kết quả của việc dùng peptit thuộc nhóm 12 (1,5 μg) cho đầu vào của ống ngà răng ở ngà răng lộ ra (khung tỷ lệ: G 500 μm , H 100 μm , I 50 μm). P chỉ tủy răng, D chỉ ngà răng, và TD chỉ ngà răng sinh lý (cấp ba) mới hình thành.

Ở nhóm đối chứng, không có thay đổi được quan sát ở ngà răng bị hỏng (FIG.10A-C). Tuy nhiên, ở các nhóm được xử lý bằng các peptit thuộc nhóm 11

(FIG.10D-F) hoặc Nhóm 12 (FIG.10G-I), sự tái hình thành ngà răng sinh lý cấp ba (TD) mà liên tục với sự tiến triển của nguyên bào tạo ngà răng của cấu trúc ngà răng ban đầu được quan sát bên dưới ngà răng còn lại ở ngà răng bị hỏng.

FIG.11 thể hiện ảnh kính hiển vi của phân tích mô học tác dụng của các peptit mới lên sự hình thành ngà răng sinh lý (ngà răng cấp ba) ở mô hình khoang sâu trong số các mô hình bít tủy răng gián tiếp, trong đó A đến C là ảnh kính hiển vi thể hiện kết quả của nhóm đối chứng, trong đó đầu vào của ống ngà răng ở ngà răng lộ ra không được xử lý bằng các vật liệu và được làm đầy bằng vật liệu phục hồi răng, xi măng GI (Glass Ionomer Cement, Fuji II LC, GC America Inc., Alsip, IL, USA) (khung tỷ lệ: A 500 μm , B 100 μm , C 50 μm); D đến F là ảnh kính hiển vi thể hiện kết quả làm đầy đầu vào của ống ngà răng ở ngà răng lộ ra bằng xi măng GI sau khi được xử lý bằng peptit thuộc nhóm 11 (1,5 μg) (khung tỷ lệ: D 500 μm , E 100 μm , F 50 μm); và G đến I là ảnh kính hiển vi thể hiện kết quả làm đầy đầu vào của ống ngà răng ở ngà răng lộ ra bằng xi măng GI sau khi được xử lý bằng peptit thuộc nhóm 12 (1,5 μg) (khung tỷ lệ: G 500 μm , H 100 μm , I 50 μm). P chỉ pulp, D chỉ ngà răng, và TD chỉ ngà răng sinh lý (thứ ba) mới hình thành.

Các mô hình khoang sâu thể hiện các kết quả tương tự với các mô hình khoang nông. Ở nhóm đối chứng, trong đó thương tổn hỏng ngà răng được xử lý bằng xi măng GI là vật liệu phục hồi răng, không quan sát thấy có thay đổi (FIG.11A-C). Tuy nhiên, ở các nhóm được xử lý bằng các peptit thuộc nhóm 11 (FIG.11D-F) hoặc Nhóm 12 (FIG.11G-I) cùng với xi măng GI, sự tái hình thành ngà răng sinh lý cấp ba (TD) mà liên tục với sự tiến triển của nguyên bào tạo ngà răng của cấu trúc ngà răng ban đầu được quan sát bên dưới ngà răng còn lại ở ngà răng bị hỏng.

Ví dụ 6: Tác dụng của các peptit mới lên sự hình thành ngà răng sinh lý (ngà răng cấp ba) ở mô hình chó bít tủy răng gián tiếp

Để kiểm tra tác dụng của các peptit mới lên sự hình thành ngà răng sinh lý (ngà răng cấp ba) ở các mô hình có bít tủy răng gián tiếp, khả năng tái tạo ngà răng được đánh giá.

Chi tiết, để thiết lập mô hình chó bị hỏng ngà răng bằng cách bít tủy răng gián tiếp, men và ngà răng ở phần cổ răng được lấy ra khỏi răng tiền hàm của các con chó

trưởng thành 12 tháng tuổi bằng cách sử dụng thiết bị khoan răng để tủy răng lộ ra bên ngoài. Các mô hình được xử lý bằng đối chứng, peptit thuộc nhóm 11, hoặc peptit thuộc nhóm 12. 3 tuần sau, các con chó trưởng thành được giết chết nhân đạo, và răng được lấy ra khỏi chúng.

Răng được lấy ra được cố định trên paraformaldehyt 4% trong 24 giờ, rửa bằng PBS (pH 7,4) vài lần, và sau đó làm mất canxi bằng axit formic 10%. Răng được làm mất canxi được nhúng vào parafin để tạo ra các phần mô. Các phần mô này được nhuộm bằng hematoxylin/eosin (H&E), và khả năng tái tạo ngà răng được đánh giá bằng cách phân tích mô học.

FIG.12 thể hiện ảnh kính hiển vi của phân tích mô học về tác dụng của các peptit mới lên sự hình thành ngà răng sinh lý (ngà răng cấp ba) ở các mô hình bít tủy răng gián tiếp, trong đó A đến C là ảnh kính hiển vi thể hiện các kết quả của nhóm đối chứng, trong đó tủy răng lộ ra không được xử lý bằng các vật liệu và sau đó được xử lý bằng xi măng GI (khung tỷ lệ: A 200 μ m, B 100 μ m, C 50 μ m); D đến F là ảnh kính hiển vi thể hiện các kết quả của đối chứng dương, trong đó tủy răng lộ ra không được xử lý bằng các vật liệu, được hàn bằng vật liệu phục hồi răng, MTA (chất kết tụ khoáng trioxit, ProRoot MTA, Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA), và sau đó phủ bằng xi măng GI (khung tỷ lệ: D 500 μ m, E 200 μ m, F 50 μ m); G đến I là ảnh kính hiển vi thể hiện các kết quả của các nhóm, trong đó tủy răng lộ ra được xử lý bằng peptit thuộc nhóm 11 (1,5 μ g), hàn bằng MTA, và sau đó phủ bằng xi măng GI (khung tỷ lệ: G 200 μ m, H 100 μ m, I 50 μ m); J đến L là ảnh kính hiển vi thể hiện các kết quả của các nhóm, trong đó tủy răng lộ ra được xử lý bằng peptit thuộc nhóm 12 (1,5 μ g), hàn bằng MTA, và sau đó phủ bằng xi măng GI (khung tỷ lệ: J 500 μ m, K 100 μ m, L 50 μ m). D chỉ ngà răng, OD chỉ men xương răng, và TD chỉ ngà răng sinh lý (thứ ba) mới hình thành.

Ở nhóm đối chứng được xử lý bằng xi măng GI, không có thay đổi được quan sát ở tủy răng của ngà răng bị hỏng (FIG.12A-C). MTA là vật liệu phục hồi răng được sử dụng rộng rãi trong việc hình thành và tái tạo ngà răng. Tuy nhiên, các mô cứng tạo ra bởi MTA được biết là làm cho các tế bào bị bẫy trong các mô khoáng hóa và có men xương răng mà tương tự với xương không có ống ngà răng vốn là thành phần

quan trọng của ngà răng. Các kết quả này còn thể hiện rằng men xương răng (OD) có các tế bào bị bẫy trong mô khoáng hóa dọc ngà răng gốc còn lại trên và dưới tủy lộ ra được quan sát ở các nhóm được xử lý bằng MTA (FIG.12D-F). Tuy nhiên, ở các nhóm được xử lý bằng MTA và các peptit thuộc nhóm 11 (FIG.12G-I) hoặc Nhóm 12 (FIG.12J-L), ngà răng (TD) sinh lý mới mà liên tục với sự tiến triển của nguyên bào tạo ngà răng của ngà răng gốc được hình thành dọc theo ngà răng gốc còn lại trên và dưới tủy lộ ra.

Các kết quả của Các ví dụ kết hợp lại, có thể thấy rằng các peptit theo sáng chế làm tăng các mức biểu hiện của các gen *Dspp*, *Dmp1* và *Nestin* mà là các gen đánh dấu quá trình biệt hóa đặc hiệu nguyên bào tạo ngà răng, và thúc đẩy sự hình thành nguyên bào tạo ngà răng khi các peptit được cấy ghép, cùng với các tế bào tủy răng, vào cơ thể, và cụ thể, các tế bào tủy răng này thúc đẩy sự hình thành của mô giống ngà răng/tủy răng khi các peptit được cấy ghép vào các khoảng trống ở ống chân răng. Cũng có thể thấy rằng ngà răng sinh lý giống với được quan sát ở ngà răng người tự nhiên được hình thành nhờ các peptit mới này.

Theo đó, có thể thấy rằng các peptit theo sáng chế có thể được sử dụng trong việc điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng.

Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi Viện đánh giá Kỹ thuật công nghiệp Hàn Quốc (Korea Evaluation Institute of Industrial Technology - KEIT) cấp kinh phí bởi Bộ Thương mại, Công nghiệp và Năng lượng vào năm 2017.

Hiệu quả của sáng chế

Peptit thúc đẩy sự tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng và điều trị quá cảm ngà răng của sáng chế có các hiệu quả tuyệt vời trong việc thúc đẩy sự tái tạo các ngà răng hoặc mô tủy răng, và do đó, nó có thể được áp dụng rộng rãi cho sự phát triển các tác nhân để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1 đến 86 và 88 đến 95.
2. Peptit theo điểm 1, trong đó peptit này có biến đổi được chọn từ nhóm gồm có axetyl hóa, amit hóa hoặc metyl hóa đầu tận cùng N hoặc C; đưa vào axit D-amin; biến đổi liên kết peptit được chọn từ nhóm gồm có $\text{CH}_2\text{—NH}$, $\text{CH}_2\text{—S}$, $\text{CH}_2\text{—S=O}$, và $\text{CH}_2\text{—CH}_2$; biến đổi khung sườn; và biến đổi mạch bên.
3. Polynucleotit mã hóa peptit theo điểm 1.
4. Vector biểu hiện chứa polynucleotit theo điểm 3.
5. Chế phẩm chứa peptit theo điểm 1.
6. Chế phẩm theo điểm 5, trong đó chế phẩm này chứa polypeptit được điều chế bằng cách liên kết các peptit lặp lại.
7. Chế phẩm chứa phức chất của peptit liên kết với thuốc có tác dụng điều trị đối với các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng, trong đó peptit này có trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1 đến 96.
8. Chế phẩm theo điểm 5, trong đó chế phẩm này là dược phẩm và còn chứa chất mang, tá dược, hoặc chất pha loãng dược dụng.
9. Chế phẩm theo điểm 7, trong đó thuốc có tác dụng điều trị đối với chứng quá cảm ngà răng, chứng sung huyết tủy răng, viêm tủy răng, thoái hóa tủy răng hoặc hoại tử tủy răng, tủy răng thối hoại.
10. Chế phẩm theo điểm 7, trong đó chế phẩm này là nước súc miệng khử trùng dùng qua đường miệng, sản phẩm vệ sinh dùng qua đường miệng, kem đánh răng, chỉ nha khoa, thuốc mỡ dùng qua đường miệng.
11. Sản phẩm thực phẩm chứa chế phẩm theo điểm 5.
12. Sản phẩm thực phẩm theo điểm 11, trong đó thực phẩm này là đồ uống, trà, gia vị, gôm hoặc bánh kẹo.

13. Hợp chất peptit bao gồm các lần lặp của đơn vị peptit, đơn vị peptit này có trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1 đến 96.
14. Hợp chất peptit theo điểm 13, trong đó peptit này có biến đổi được chọn từ nhóm gồm có axetyl hóa, amit hóa hoặc metyl hóa đầu tận cùng N hoặc C; đưa vào axit D-amin; biến đổi liên kết peptit được chọn từ nhóm gồm có $\text{CH}_2\text{—NH}$, $\text{CH}_2\text{—S}$, $\text{CH}_2\text{—S=O}$, và $\text{CH}_2\text{—CH}_2$; biến đổi khung sườn; và biến đổi mạch bên.
15. Chế phẩm chứa hợp chất peptit theo điểm 13.
16. Chế phẩm chứa phức chất của hợp chất peptit theo điểm 13 được liên kết với thuốc có tác dụng điều trị đối với các bệnh về ngà răng hoặc tủy răng.
17. Chế phẩm theo điểm 16, trong đó thuốc có tác dụng điều trị đối với chứng quá cảm ngà răng, chứng sung huyết tủy răng, viêm tủy răng, thoái hóa tủy răng hoặc hoại tử tủy răng, hoặc tủy răng thôi hoại.
18. Chế phẩm theo điểm 16, trong đó chế phẩm này là nước súc miệng khử trùng dùng qua đường miệng, sản phẩm vệ sinh dùng qua đường miệng, kem đánh răng, chỉ nha khoa, thuốc mỡ dùng qua đường miệng.
19. Sản phẩm thực phẩm chứa chế phẩm theo điểm 15.
20. Sản phẩm thực phẩm theo điểm 19, trong đó thực phẩm này là đồ uống, trà, gia vị, gôm hoặc bánh kẹo.

FIG. 1A

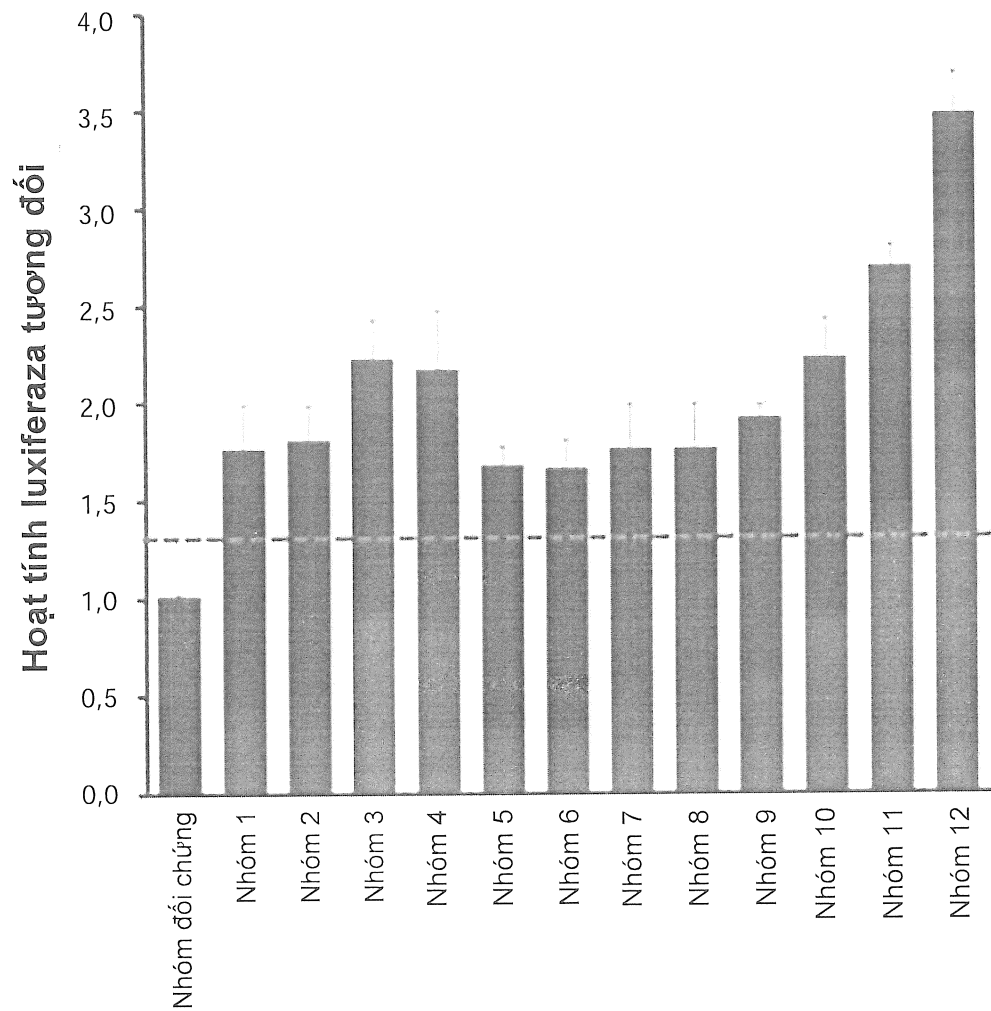


FIG. 1B

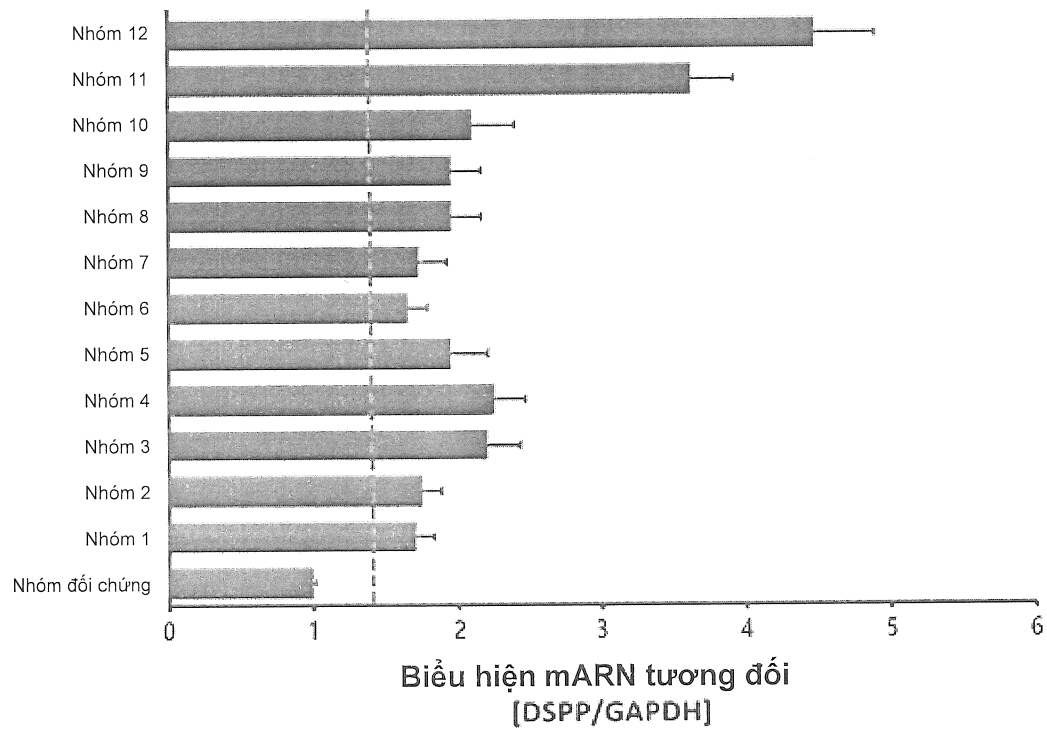


FIG. 1C

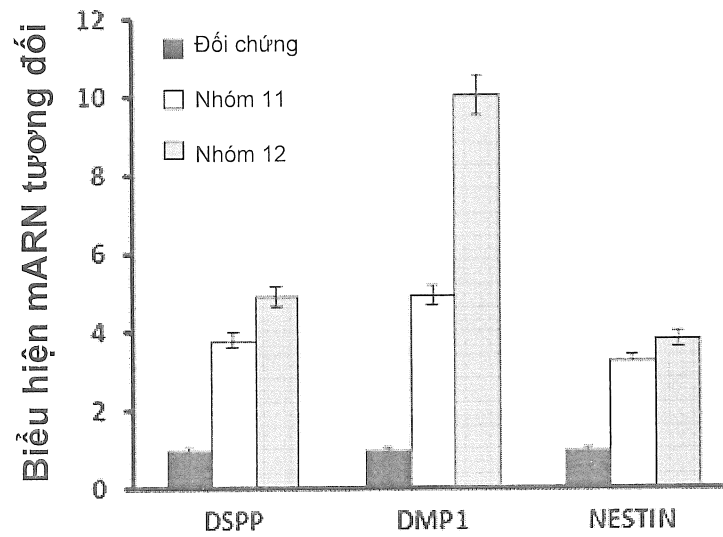


FIG. 1D

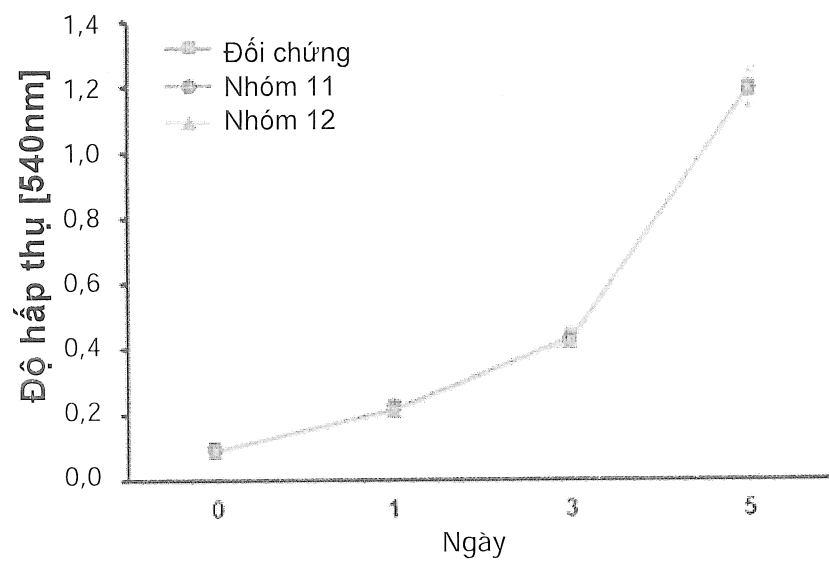


FIG. 2

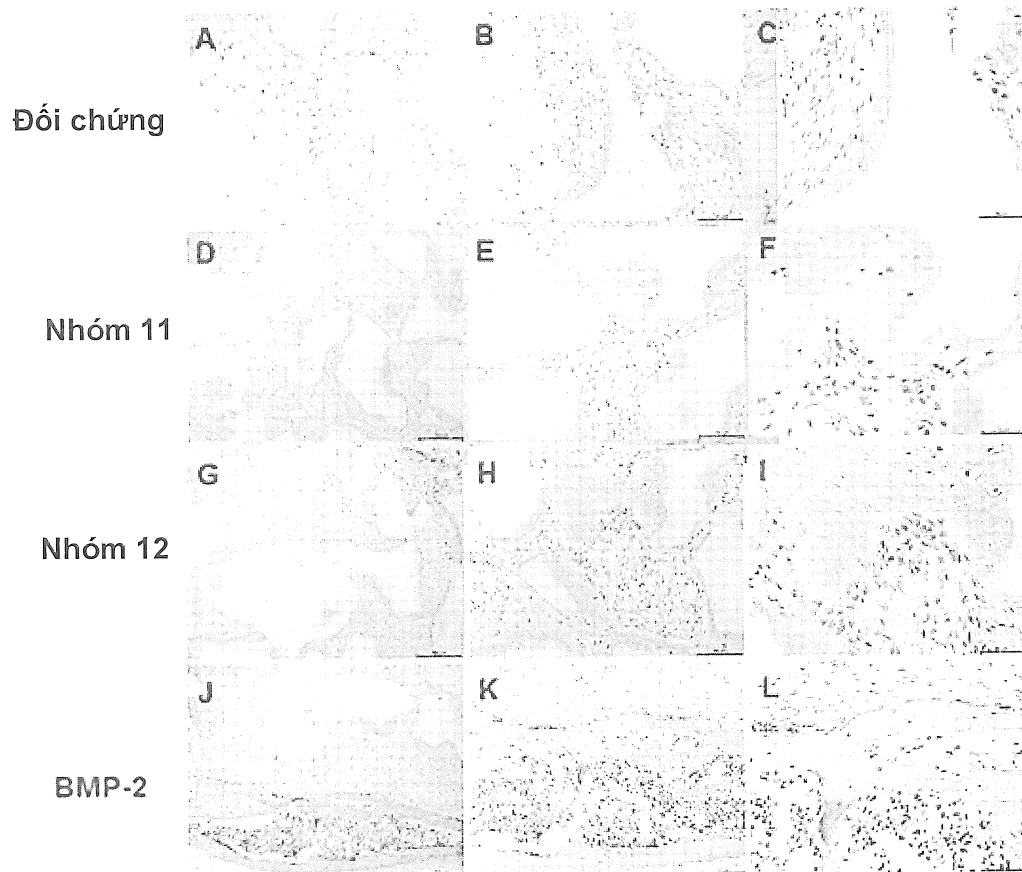


FIG. 3

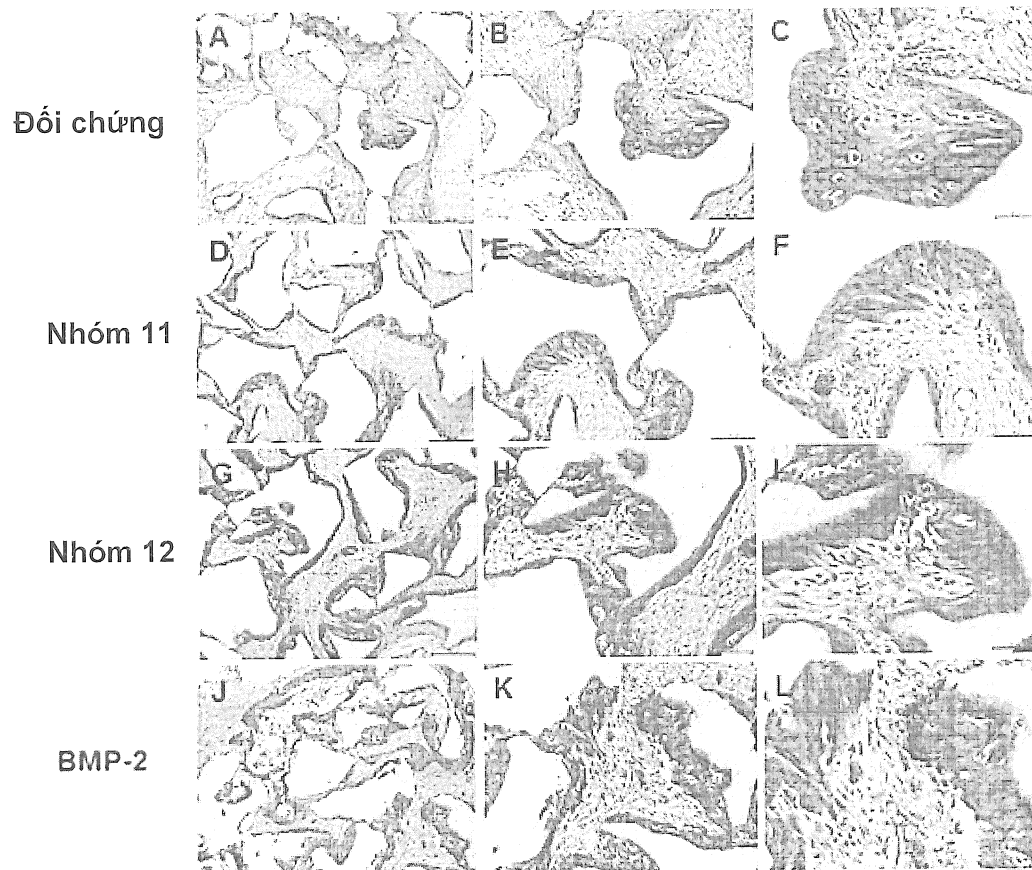


FIG. 4

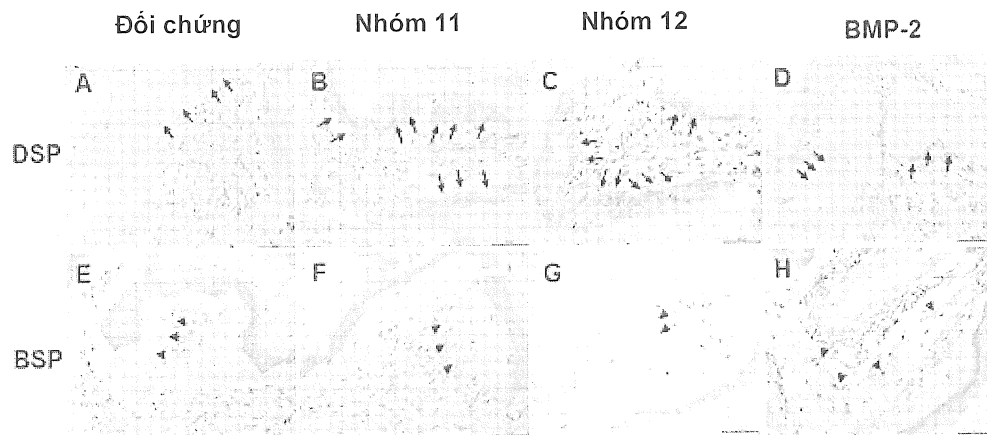


FIG. 5

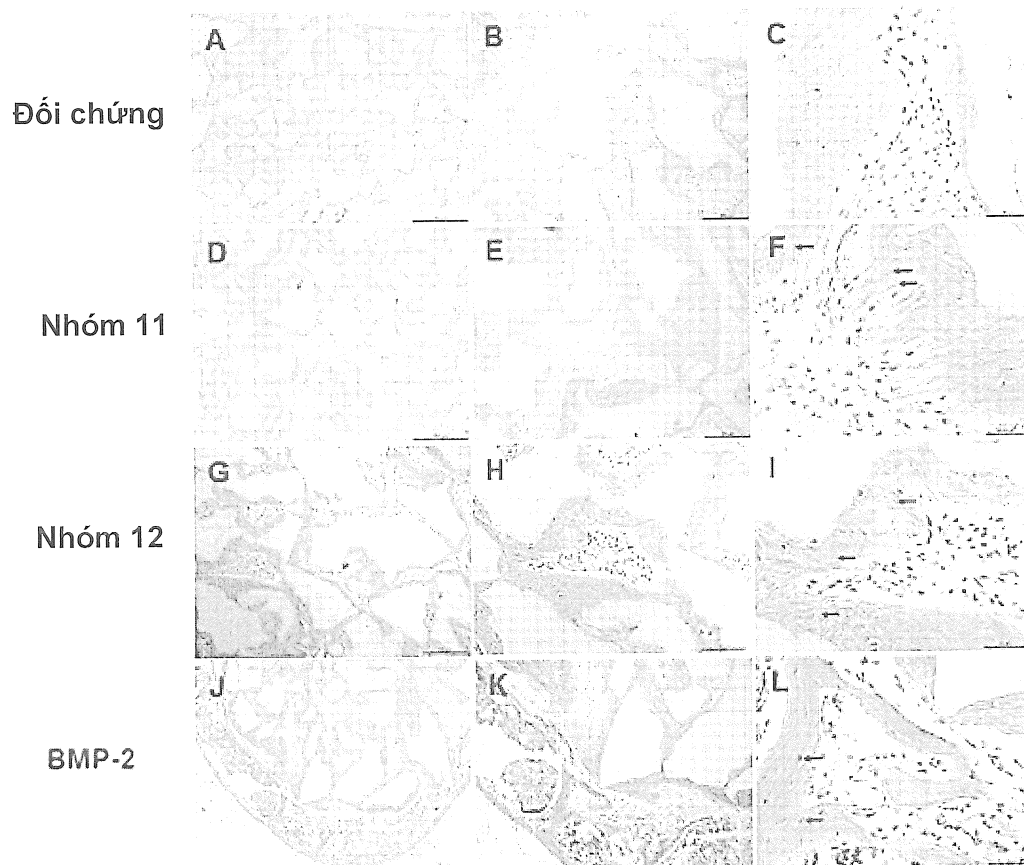


FIG. 6

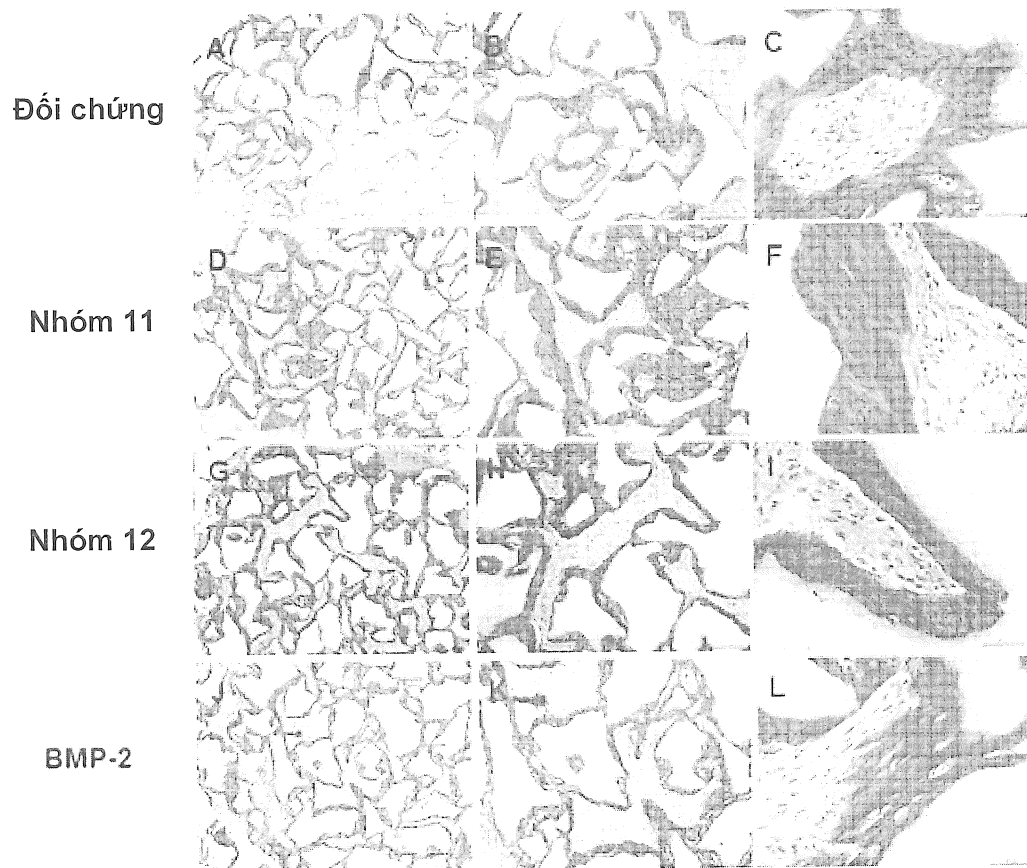


FIG. 7

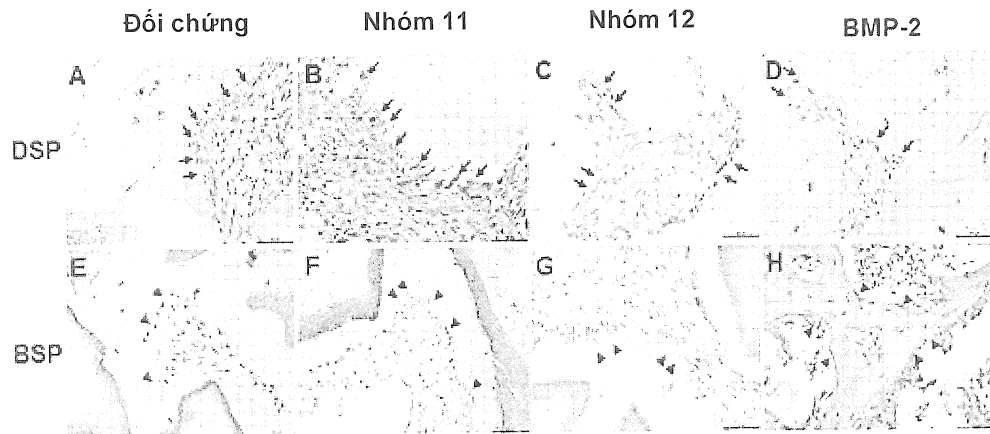


FIG. 8

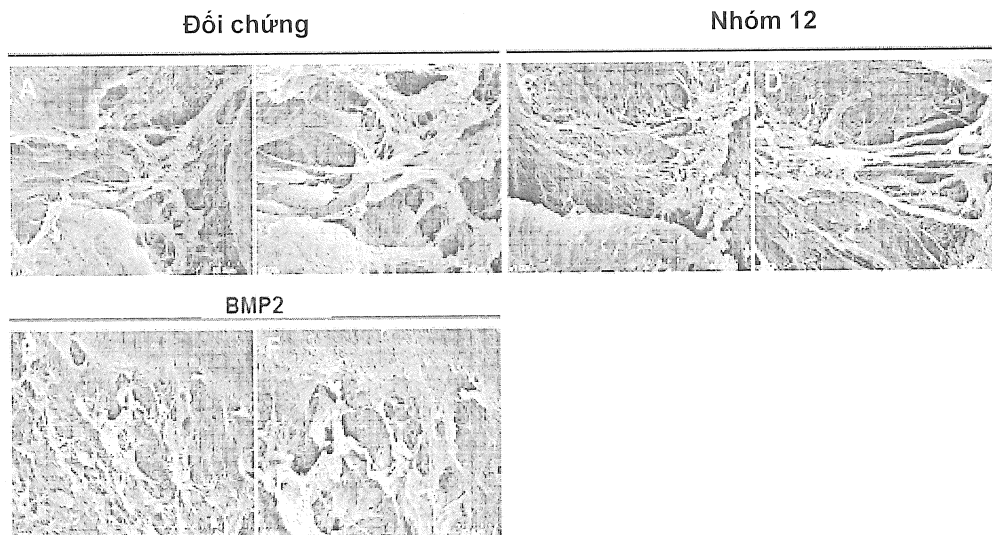


FIG. 9

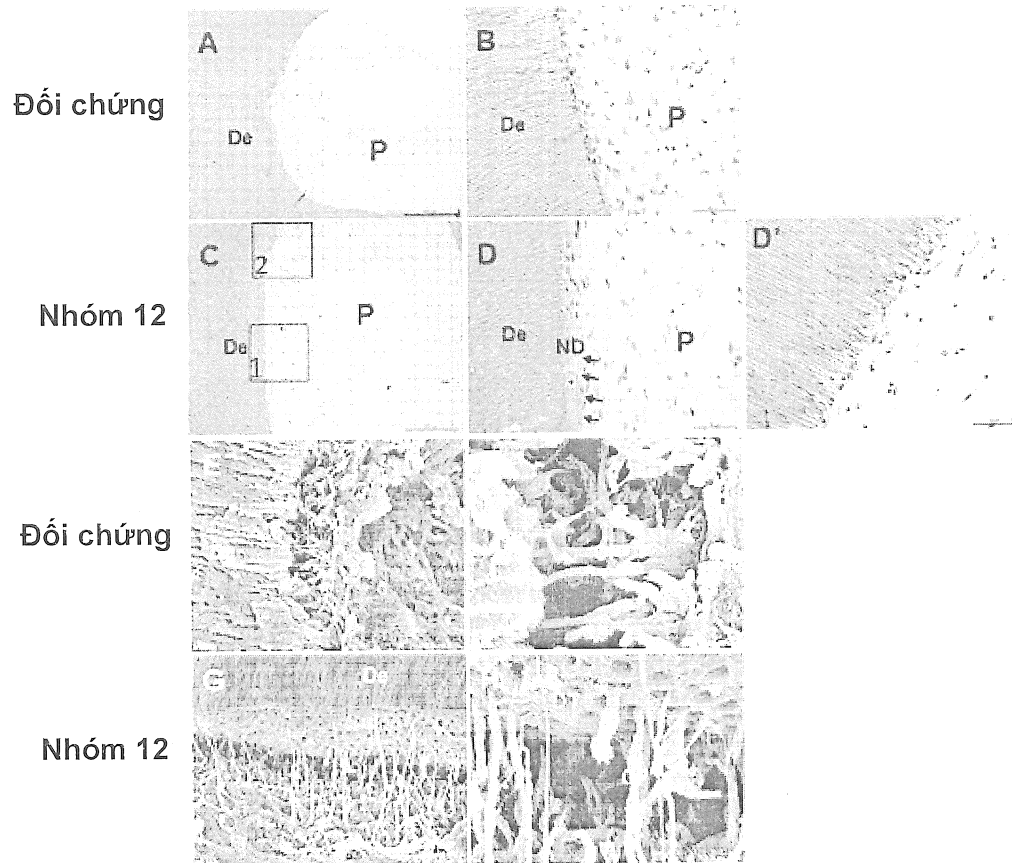


FIG. 10

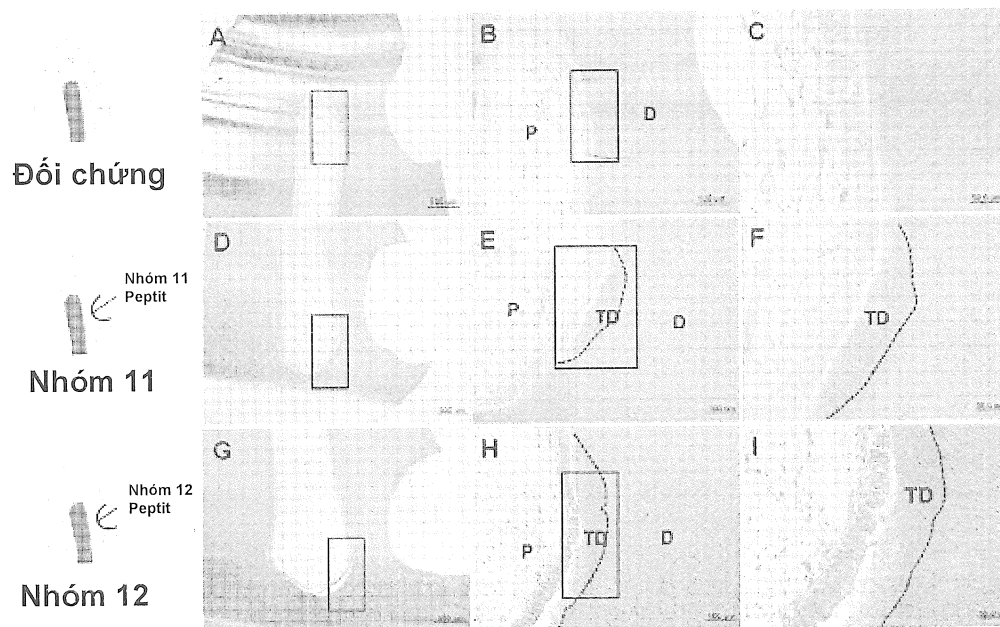


FIG. 11

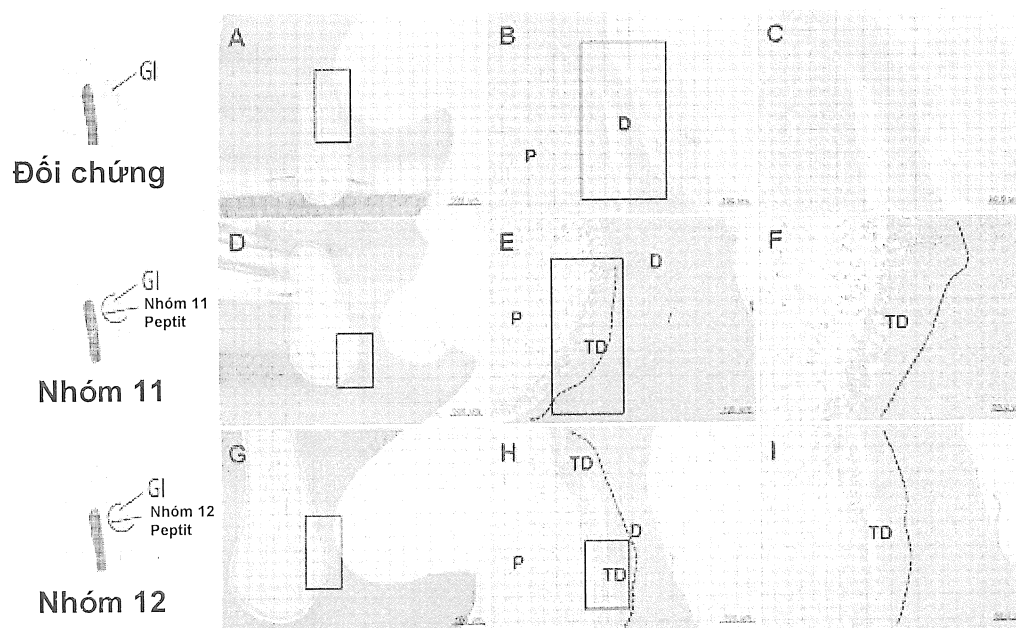
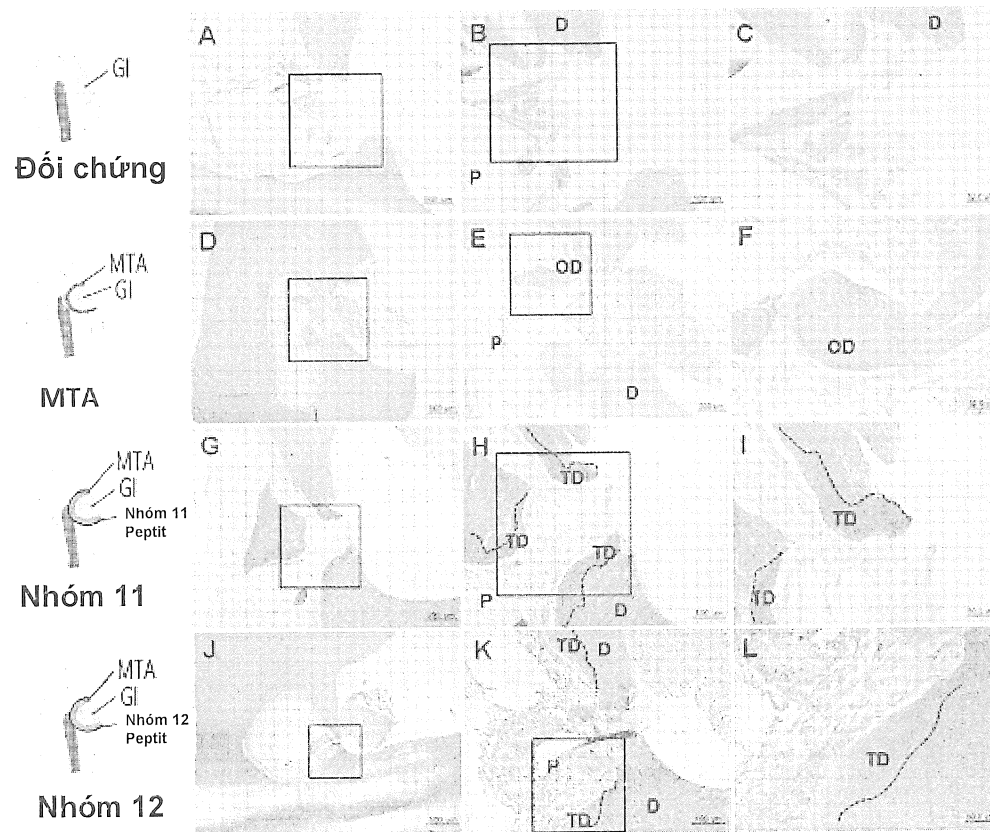


FIG. 12



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> HysensBio

<120> Peptit để thúc đẩy sự tái tạo và điều trị bệnh về ngà răng hoặc
tủy răng, chế phẩm và sản phẩm thực phẩm chứa peptit này

<130> KPA161103-KR

<160> 104

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213>Trình tự nhân tạo

<220>

<223>Peptit mới

<400> 1

Lys	Tyr	Gln	Arg	Arg	Lys	Lys	Asn	Lys	Tyr
1				5					10

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213>Trình tự nhân tạo

<220>

<223>Peptit mới

<400> 2

Lys	Tyr	Gln	Arg	Arg	Lys	Arg	Asn	Lys	Tyr
1				5					10

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213>Trình tự nhân tạo

<220>

<223>Peptit mới

<400> 3

Lys	Tyr	Gln	Arg	Arg	Arg	Lys	Asn	Lys	Tyr
1				5					10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213>Trình tự nhân tạo

<220>

<223>Peptit mới

<400> 4

Lys	Tyr	Gln	Arg	Arg	Arg	Arg	Asn	Lys	Tyr
1				5					10

<210> 5

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 5
 Lys Tyr Gln Arg Lys Lys Lys Asn Lys Tyr
 1 5 10

 <210> 6
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 6
 Lys Tyr Gln Arg Lys Arg Lys Asn Lys Tyr
 1 5 10

 <210> 7
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 7
 Lys Tyr Gln Arg Lys Lys Arg Asn Lys Tyr
 1 5 10

 <210> 8
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 8
 Lys Tyr Gln Arg Lys Arg Arg Asn Lys Tyr
 1 5 10

 <210> 9
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 9
 Lys Tyr Gln Arg Arg Lys Lys Ser Lys Tyr
 1 5 10

```

<210>      10
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      10
Lys Tyr Gln Arg Arg Lys Arg Ser Lys Tyr
  1                      5                      10

<210>      11
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      11
Lys Tyr Gln Arg Arg Arg Lys Ser Lys Tyr
  1                      5                      10

<210>      12
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      12
Lys Tyr Gln Arg Arg Arg Arg Ser Lys Tyr
  1                      5                      10

<210>      13
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      13
Lys Tyr Gln Arg Lys Lys Lys Ser Lys Tyr
  1                      5                      10

<210>      14
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      14
Lys Tyr Gln Arg Lys Arg Lys Ser Lys Tyr
  1                      5                      10

```

<210> 15
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 15
 Lys Tyr Gln Arg Lys Lys Arg Ser Lys Tyr
 1 5 10

 <210> 16
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 16
 Lys Tyr Gln Arg Lys Arg Arg Ser Lys Tyr
 1 5 10

 <210> 17
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 17
 Lys Tyr Gln Arg Arg Lys Lys Asn Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 18
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 18
 Lys Tyr Gln Arg Arg Lys Arg Asn Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 19
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 19
 Lys Tyr Gln Arg Arg Arg Lys Asn Tyr Lys

1	5	10
<210>	20	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	Trình tự nhân tạo	
<220>		
<223>	Peptit mới	
<400>	20	
Lys Tyr Gln Arg Arg Arg Arg Asn Tyr Lys		
1	5	10
<210>	21	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	Trình tự nhân tạo	
<220>		
<223>	Peptit mới	
<400>	21	
Lys Tyr Gln Arg Lys Lys Lys Asn Tyr Lys		
1	5	10
<210>	22	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	Trình tự nhân tạo	
<220>		
<223>	Peptit mới	
<400>	22	
Lys Tyr Gln Arg Lys Arg Lys Asn Tyr Lys		
1	5	10
<210>	23	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	Trình tự nhân tạo	
<220>		
<223>	Peptit mới	
<400>	23	
Lys Tyr Gln Arg Lys Lys Arg Asn Tyr Lys		
1	5	10
<210>	24	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	Trình tự nhân tạo	
<220>		
<223>	Peptit mới	
<400>	24	

Lys Tyr Gln Arg Lys Arg Arg Asn Tyr Lys
 1 5 10

<210> 25
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 25
 Lys Tyr Gln Arg Arg Lys Lys Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 26
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 26
 Lys Tyr Gln Arg Arg Lys Arg Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 27
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 27
 Lys Tyr Gln Arg Arg Arg Lys Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 28
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 28
 Lys Tyr Gln Arg Arg Arg Arg Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 29
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 29
 Lys Tyr Gln Arg Lys Lys Lys Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 30
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 30
 Lys Tyr Gln Arg Lys Arg Lys Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 31
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 31
 Lys Tyr Gln Arg Lys Lys Arg Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 32
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 32
 Lys Tyr Gln Arg Lys Arg Arg Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 33
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 33
 Lys Tyr Arg Gln Arg Lys Lys Asn Lys Tyr
 1 5 10

<210> 34
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 34
 Lys Tyr Arg Gln Arg Lys Arg Asn Lys Tyr
 1 5 10

<210> 35
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 35
 Lys Tyr Arg Gln Arg Arg Lys Asn Lys Tyr
 1 5 10

<210> 36
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 36
 Lys Tyr Arg Gln Arg Arg Arg Asn Lys Tyr
 1 5 10

<210> 37
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 37
 Lys Tyr Arg Gln Lys Lys Lys Asn Lys Tyr
 1 5 10

<210> 38
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 38
 Lys Tyr Arg Gln Lys Arg Lys Asn Lys Tyr
 1 5 10

<210> 39
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>

<223> Peptit mới

<400> 39

Lys Tyr Arg Gln Lys Lys Arg Asn Lys Tyr
1 5 10

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit mới

<400> 40

Lys Tyr Arg Gln Lys Arg Arg Asn Lys Tyr
1 5 10

<210> 41

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit mới

<400> 41

Lys Tyr Arg Gln Arg Lys Lys Ser Lys Tyr
1 5 10

<210> 42

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit mới

<400> 42

Lys Tyr Arg Gln Arg Lys Arg Ser Lys Tyr
1 5 10

<210> 43

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit mới

<400> 43

Lys Tyr Arg Gln Arg Arg Lys Ser Lys Tyr
1 5 10

<210> 44

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

```

<220>
<223>      Peptit mới

<400>      44
Lys Tyr Arg Gln Arg Arg Arg Ser Lys Tyr
  1              5              10

<210>      45
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      45
Lys Tyr Arg Gln Lys Lys Lys Ser Lys Tyr
  1              5              10

<210>      46
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      46
Lys Tyr Arg Gln Lys Arg Lys Ser Lys Tyr
  1              5              10

<210>      47
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      47
Lys Tyr Arg Gln Lys Lys Arg Ser Lys Tyr
  1              5              10

<210>      48
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      48
Lys Tyr Arg Gln Lys Arg Arg Ser Lys Tyr
  1              5              10

<210>      49
<211>      10
<212>      PRT

```

<213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 49
 Lys Tyr Arg Gln Arg Lys Lys Asn Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 50
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 50
 Lys Tyr Arg Gln Arg Lys Arg Asn Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 51
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 51
 Lys Tyr Arg Gln Arg Arg Lys Asn Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 52
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 52
 Lys Tyr Arg Gln Arg Arg Arg Asn Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 53
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 53
 Lys Tyr Arg Gln Lys Lys Lys Asn Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 54
 <211> 10

<212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 54
 Lys Tyr Arg Gln Lys Arg Lys Asn Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 55
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 55
 Lys Tyr Arg Gln Lys Lys Arg Asn Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 56
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 56
 Lys Tyr Arg Gln Lys Arg Arg Asn Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 57
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 57
 Lys Tyr Arg Gln Arg Lys Lys Ser Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 58
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 58
 Lys Tyr Arg Gln Arg Lys Arg Ser Tyr Lys
 1 5 10

 <210> 59

```

<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      59
Lys Tyr Arg Gln Arg Arg Lys Ser Tyr Lys
  1              5              10

<210>      60
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      60
Lys Tyr Arg Gln Arg Arg Arg Ser Tyr Lys
  1              5              10

<210>      61
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      61
Lys Tyr Arg Gln Lys Lys Lys Ser Tyr Lys
  1              5              10

<210>      62
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      62
Lys Tyr Arg Gln Lys Arg Lys Ser Tyr Lys
  1              5              10

<210>      63
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      63
Lys Tyr Arg Gln Lys Lys Arg Ser Tyr Lys
  1              5              10

```

```

<210>      64
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      64
Lys Tyr Arg Gln Lys Arg Arg Ser Tyr Lys
  1                      5                      10

<210>      65
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      65
Lys Tyr Lys Gln Arg Lys Lys Asn Lys Tyr
  1                      5                      10

<210>      66
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      66
Lys Tyr Lys Gln Arg Lys Arg Asn Lys Tyr
  1                      5                      10

<210>      67
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      67
Lys Tyr Lys Gln Arg Arg Lys Asn Lys Tyr
  1                      5                      10

<210>      68
<211>      10
<212>      PRT
<213>      Trình tự nhân tạo
<220>
<223>      Peptit mới

<400>      68
Lys Tyr Lys Gln Arg Arg Arg Asn Lys Tyr
  1                      5                      10

```

<210> 69
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 69
 Lys Tyr Lys Gln Lys Lys Lys Asn Lys Tyr
 1 5 10

 <210> 70
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 70
 Lys Tyr Lys Gln Lys Arg Lys Asn Lys Tyr
 1 5 10

 <210> 71
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 71
 Lys Tyr Lys Gln Lys Lys Arg Asn Lys Tyr
 1 5 10

 <210> 72
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 72
 Lys Tyr Lys Gln Lys Arg Arg Asn Lys Tyr
 1 5 10

 <210> 73
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

 <400> 73
 Lys Tyr Lys Gln Arg Lys Lys Ser Lys Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 74
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 74
 Lys Tyr Lys Gln Arg Lys Arg Ser Lys Tyr
 1 5 10

<210> 75
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 75
 Lys Tyr Lys Gln Arg Arg Lys Ser Lys Tyr
 1 5 10

<210> 76
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 76
 Lys Tyr Lys Gln Arg Arg Arg Ser Lys Tyr
 1 5 10

<210> 77
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 77
 Lys Tyr Lys Gln Lys Lys Lys Ser Lys Tyr
 1 5 10

<210> 78
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 78

Lys Tyr Lys Gln Lys Arg Lys Ser Lys Tyr
 1 5 10

<210> 79
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 79
 Lys Tyr Lys Gln Lys Lys Arg Ser Lys Tyr
 1 5 10

<210> 80
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 80
 Lys Tyr Lys Gln Lys Arg Arg Ser Lys Tyr
 1 5 10

<210> 81
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 81
 Lys Tyr Lys Gln Arg Lys Lys Asn Tyr Lys
 1 5 10

<210> 82
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 82
 Lys Tyr Lys Gln Arg Lys Arg Asn Tyr Lys
 1 5 10

<210> 83
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 83
 Lys Tyr Lys Gln Arg Arg Lys Asn Tyr Lys
 1 5 10

<210> 84
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 84
 Lys Tyr Lys Gln Arg Arg Arg Asn Tyr Lys
 1 5 10

<210> 85
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 85
 Lys Tyr Lys Gln Lys Lys Lys Asn Tyr Lys
 1 5 10

<210> 86
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 86
 Lys Tyr Lys Gln Lys Arg Lys Asn Tyr Lys
 1 5 10

<210> 87
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 87
 Lys Tyr Lys Gln Lys Lys Arg Asn Tyr Lys
 1 5 10

<210> 88
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 88
 Lys Tyr Lys Gln Lys Arg Arg Asn Tyr Lys
 1 5 10

<210> 89
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 89
 Lys Tyr Lys Gln Arg Lys Lys Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 90
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 90
 Lys Tyr Lys Gln Arg Lys Arg Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 91
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 91
 Lys Tyr Lys Gln Arg Arg Lys Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 92
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Peptit mới

<400> 92
 Lys Tyr Lys Gln Arg Arg Arg Ser Tyr Lys
 1 5 10

<210> 93
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>

<223> Peptit mới

<400> 93

Lys Tyr Lys Gln Lys Lys Lys Ser Tyr Lys
1 5 10

<210> 94

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit mới

<400> 94

Lys Tyr Lys Gln Lys Arg Lys Ser Tyr Lys
1 5 10

<210> 95

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit mới

<400> 95

Lys Tyr Lys Gln Lys Lys Arg Ser Tyr Lys
1 5 10

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit mới

<400> 96

Lys Tyr Lys Gln Lys Arg Arg Ser Tyr Lys
1 5 10

<210> 97

<211> 20

<212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> mới

<400> 97

ctgttgctag tgggtgctgtt
20

<210> 98

<211> 23

<212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> mỗi

 <400> 98
 cattctcctt gtgttccttt ggg
 23

 <210> 99
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi

 <400> 99
 aggtcgggtg gaacggattt g
 21

 <210> 100
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi

 <400> 100
 tgtagaccat gtagttgagg tca
 23

 <210> 101
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi

 <400> 101
 cattctcctt gtgttccttt ggg
 23

 <210> 102
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> mỗi

 <400> 102
 tgtggtcact atttgctgt g
 21

 <210> 103
 <211> 19
 <212> DNA

<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> mỗi

<400> 103
ccctgaagtc gaggagctg
19

<210> 104
<211> 19
<212> DNA
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> mỗi
<400> 104
ctgctgcacc tctaagcga
19