



(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)



1-0035903

(51)⁷ A61K 39/00; A61P 19/02; C07K 16/28; (13) B
A61P 37/06; C07K 14/00; A61K 39/395;
A61P 29/00

- (21) 1-2015-03701 (22) 12/03/2014
(86) PCT/US2014/024908 12/03/2014 (87) WO2014/159725 02/10/2014
(30) 61/780,260 13/03/2013 US; 61/942,776 21/02/2014 US
(45) 26/06/2023 423 (43) 25/04/2016 337A
(73) AMGEN INC. (US)
One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320-1799, United States of America
(72) HSU, Hailing (US); ZHANG, Ming (US); KANNAN, Gunasekaran (US);
JACOBSEN, Frederick W. (US); TSUJI, Wayne (US).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) PROTEIN ĐẶC HIỆU KÉP ĐẶC HIỆU ĐỐI VỚI BAFF VÀ B7RP1, AXIT NUCLEIC MÃ HOÁ PROTEIN ĐẶC HIỆU KÉP NÀY VÀ PHƯƠNG PHÁP TẠO RA PROTEIN ĐẶC HIỆU KÉP NÀY

(57) Sáng chế mô tả protein đặc hiệu kép đặc hiệu với BAFF và B7RP1, axit nucleic mã hóa protein này và phương pháp tạo ra protein này.

Tên cấu trúc	P71617	P71618	P71619	P71620	P71621	P71622	P71523
Đặc tính cấu trúc	HC-thể dung hợp-C	LC-thể dung hợp-N	1K-thể dung hợp-C	G4S-thể dung hợp-C	2x-vòng Fc	1x vòng Fc 1x thể dung hợp-C	1x CH2 1x CH3
Kiểu dáng cấu trúc							

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Các phân tử đặc hiệu kép được bộc lộ trong bản mô tả này thuộc lĩnh vực trị liệu bằng protein.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hầu hết các protein trị liệu liên kết với một protein đích đơn lẻ với mức độ đặc hiệu cao, nhờ đó cản trở hoạt tính của protein đích đơn lẻ này. Protein đó có thể là một phần của một hoặc nhiều chu trình sinh học mà gây ra bệnh ở người đang được điều trị, và do đó, protein trị liệu có thể ức chế sự tiến triển của bệnh. Tuy nhiên, mức độ hiệu nghiệm của các protein trị liệu hiếm khi là hoàn toàn đối với tất cả các bệnh nhân. Trong một số trường hợp, mức độ hiệu nghiệm không hoàn toàn của các protein trị liệu có thể là do sự phức tạp của bệnh. Ví dụ, một số bệnh có thể là do nhiều chu trình sinh học gây ra, hoặc các chu trình sinh học khác nhau có thể đóng một vai trò chủ yếu trong việc gây ra hoạt động của bệnh ở các bệnh nhân khác nhau có cùng một tình trạng xác định được về mặt lâm sàng. Vì vậy, ở một số bệnh, có thể là có lợi nếu ức chế một cách đồng thời ít nhất hai chu trình sinh học.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất protein đặc hiệu kép mà có thể liên kết với và ức chế hoạt tính sinh học của cả protein 1 liên quan đến B7 (B7-related protein 1 - B7RP1, còn được gọi là GL50 và phối tử cùng kích thích tế bào T (T-cell co-stimulator ligand - ICOSLG)) của người và yếu tố hoạt hóa tế bào B của người (B-cell activating factor - BAFF, còn được gọi là thành viên 13b siêu họ của yếu tố hoại tử khối u (tumor necrosis factor superfamily, member 13b - TNFSF13B)). BAFF đóng vai trò nhất định trong quá trình sống sót của tế bào B, và B7RP1 đóng vai trò nhất định trong

quá trình cùng kích thích tế bào T. Vì vậy, protein mà ức chế hoạt tính của cả hai protein này cản trở hoạt tính của cả tế bào B và tế bào T.

Sáng chế đề xuất protein đặc hiệu kép, trong đó protein này có thể ức chế sự tăng sinh do BAFF gây ra của các tế bào B của người và trong đó protein này có thể ức chế sự tăng sinh do B7RP1 gây ra của các tế bào T của người. Protein đặc hiệu kép có thể chứa kháng thể IgG chứa hai chuỗi nặng của globulin miễn dịch có các trình tự axit amin khác nhau và hai chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch có các trình tự axit amin khác nhau. Kháng thể IgG có thể ức chế sự tăng sinh do BAFF gây ra của các tế bào B của người và khả năng tăng sinh do B7RP1 gây ra của các tế bào T của người. Kháng thể IgG có thể là kháng thể IgG1, kháng thể IgG2, kháng thể IgG3, hoặc kháng thể IgG4 và có thể là kháng thể IgG của người hoặc kháng thể IgG được làm giống như kháng thể của người. Protein đặc hiệu kép có thể chứa vùng xác định tính bổ trợ 1 (complementarity determining region 1 - CDR1) của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:8, vùng xác định tính bổ trợ 2 (complementarity determining region 2 - CDR2) của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:9, vùng xác định tính bổ trợ 3 (complementarity determining region 3 - CDR3) của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:10, CDR1 của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:11, CDR2 của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:12, và CDR3 của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:13. Ngoài ra, protein đặc hiệu kép có thể chứa vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:15 hoặc biến thể của nó và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:14 hoặc biến thể của nó. Các trình tự biến thể này có thể chứa tối đa 10 đoạn xóa bỏ, đoạn chèn hoặc đoạn thay thế của một axit amin đơn lẻ trong mỗi 100 axit amin so với trình tự tham chiếu.

Theo một phương án khác, protein đặc hiệu kép mà có thể ức chế sự tăng sinh do BAFF gây ra của các tế bào B của người và mà có thể ức chế sự tăng sinh do B7RP1 gây ra của các tế bào T của người, có thể chứa: (a) polypeptit chứa trình

tự axit amin có công thức sau: A-L1-P-L2-P, trong đó A là chuỗi nặng của globulin miễn dịch của kháng thể IgG, L1 là liên kết thứ nhất mà không có mặt hoặc có chiều dài từ 3 đến 40 axit amin, P là peptit liên kết với BAFF mà có chiều dài từ 10 đến 40 axit amin, và L2 là liên kết peptit mà không có mặt hoặc có chiều dài từ 5 đến 50 axit amin; và (b) chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch. Chuỗi nặng của globulin miễn dịch của (a) và chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch của (b) có thể tạo ra kháng thể IgG, chứa hai phân tử của polypeptit của (a) và hai phân tử của chuỗi nhẹ của (b), mà có thể liên kết với B7RP1 và/hoặc có thể ức chế sự tăng sinh do B7RP1 gây ra của các tế bào T của người. Chuỗi nặng của globulin miễn dịch có thể mất lysin ở đầu tận cùng C của nó nằm ngay trước L1. Kháng thể IgG có thể là kháng thể IgG1, kháng thể IgG2, kháng thể IgG3, hoặc kháng thể IgG4 của người hoặc được làm giống như kháng thể của người. Peptit liên kết với BAFF P có thể có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, hoặc SEQ ID NO:3. L1 có thể có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:4, 37, 38, 39, hoặc 40. L2 có thể có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:5, 6, hoặc 7. Protein đặc hiệu kép có thể chứa CDR1 của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:8 (RASQGISNWLA), CDR2 của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:9 (AASSLQS), CDR3 của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:10 (QQYDSYPRT), CDR1 của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:11 (SYWMS), CDR2 của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:12 (YIKQDGNEKYYYVDSVKG), và CDR3 của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:13 (EGILWFGDLPTF). Protein đặc hiệu kép có thể chứa vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:14 và/hoặc vùng biến đổi của chuỗi nặng của globulin miễn dịch chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:15. Protein đặc hiệu kép có thể chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19 hoặc biến thể của nó và trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:17 hoặc 18 hoặc các biến thể của chúng. Các trình tự biến thể này không thể chứa nhiều hơn 10 đoạn xóa bỏ, đoạn chèn hoặc đoạn thay thế một axit amin trong mỗi 100 axit amin so với trình tự tham chiếu.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất protein đặc hiệu kép chứa: (a) polypeptit chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:17 hoặc SEQ ID NO:18 hoặc các biến thể của chúng; và (b) một polypeptit khác chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19 hoặc biến thể của nó. Các trình tự biến thể này không thể chứa nhiều hơn 10 đoạn xóa bỏ, đoạn chèn hoặc đoạn thay thế một axit amin trong mỗi 100 axit amin so với trình tự tham chiếu. Protein đặc hiệu kép có thể ức chế sự tăng sinh do BAFF gây ra của các tế bào B của người và khả năng tăng sinh do B7RP1 gây ra của các tế bào T của người. Protein đặc hiệu kép có thể là tetrame chứa hai phân tử của polypeptit của (a) và hai phân tử của polypeptit của (b).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất protein chứa liên kết chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc SEQ ID NO:7. Theo một số phương án, protein này có thể ức chế sự tăng sinh do BAFF gây ra của các tế bào B của người và/hoặc khả năng tăng sinh do B7RP1 gây ra của các tế bào T của người. Protein này có thể bao gồm các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:14, và/hoặc SEQ ID NO:15. Protein này có thể chứa trình tự axit amin chứa ít nhất hai bản sao của trình tự nêu trong SEQ ID NO:1 ngăn cách bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc 7. Theo một phương án khác nữa, protein này có thể chứa chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch và chuỗi nặng của globulin miễn dịch, và trình tự nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc 7 có thể nằm sau đầu tận cùng C của chuỗi nặng. Theo các phương án này, trình tự nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc 7 có thể nằm bên sườn các peptit mà liên kết với protein không phải là protein được liên kết bởi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất được phẩm chứa protein bất kỳ trong số các protein đặc hiệu kép được bộc lộ trong bản mô tả này hoặc protein chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc 7 và tá được chấp nhận được về mặt sinh lý.

Sáng chế còn đề xuất axit nucleic mã hóa polypeptit bất kỳ nằm trong một protein trong số các protein đặc hiệu kép hoặc các protein chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc SEQ ID NO:7 được bộc lộ trong bản mô tả này. Các axit nucleic làm ví dụ mã hóa polypeptit nằm trong protein đặc hiệu kép bao gồm, ví dụ, các trình tự nêu trong SEQ ID NO: 55, 56, 60, 61, 62, và 63, trong số các đối tượng

khác. Sáng chế mô tả các vật truyền chứa các axit nucleic này và các tế bào chủ chứa các vật truyền và/hoặc axit nucleic này. Sáng chế còn đề xuất phương pháp tạo protein đặc hiệu kép bao gồm việc nuôi cấy tế bào chủ chứa axit nucleic mã hóa protein bất kỳ trong số các protein đặc hiệu kép được bộc lộ trong bản mô tả này trong các điều kiện sao cho axit nucleic được biểu hiện và thu hồi protein từ khối tế bào hoặc môi trường nuôi cấy. Tế bào chủ có thể là tế bào động vật có vú, ví dụ, tế bào CHO, hoặc tế bào vi khuẩn như *Escherichia coli*.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh luput ban đỏ toàn thân, kể cả bệnh viêm thận do luput, bao gồm việc cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của protein bất kỳ trong số các protein đặc hiệu kép được bộc lộ trong bản mô tả này hoặc được phẩm chứa protein đặc hiệu kép này. Có thể cho bệnh nhân dùng một chất trị liệu khác trước khi, sau khi, hoặc đồng thời với protein đặc hiệu kép. Chất trị liệu khác có thể là corticosteroid, thuốc trị bệnh sốt rét, axit retinoic, NSAID, xyclophosphamit, dehydroepiandrosteron, mycophenolat mofetil, azathioprin, chlorambucil, metotrexat, tacrolimus, đapson, talidomit, leflunomit, hoặc xyclosporin.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh bao gồm việc cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của protein bất kỳ trong số các protein đặc hiệu kép được bộc lộ trong bản mô tả này hoặc được phẩm chứa protein đặc hiệu kép được bộc lộ trong bản mô tả này, trong đó bệnh nhân mắc bệnh được chọn từ nhóm bao gồm: bệnh viêm mạch dương tính với ANCA, bệnh viêm đa khớp dạng thấp (rheumatoid arthritis - RA), bệnh Crohn, bệnh viêm loét kết tràng, bệnh celiac, bệnh pemphigut, bệnh pemphigoid, bệnh luput ban đỏ da bán cấp (subacute cutaneous lupus erythematosus - SCLE), bệnh xơ cứng rải rác, bệnh đa dây thần kinh do bệnh viêm hủy myelin mạn tính gây ra (chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy - CIDP), bệnh nhược cơ năng, hội chứng Goodpasture, bệnh viêm thận tiểu cầu, bệnh thiếu máu tan huyết tự miễn (autoimmune hemolytic anemia - AIHA), bệnh ban xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn (idiopathic thrombocytopenic purpura - ITP), bệnh viêm gan mạn tính hoạt động, bệnh xơ ống mật nguyên phát, hội chứng Sjogren, bệnh xơ cứng toàn thân,

bệnh viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Graves, bệnh Addison, và tình trạng tạo bướu tân sinh nhiều tuyến nội tiết (multiple endocrine neoplasia - MEN).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa protein bất kỳ trong số các protein đặc hiệu kép hoặc các protein chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc SEQ ID NO:7 được bộc lộ trong bản mô tả này. Ví dụ, được phẩm này có thể được dùng để điều trị luput ban đỏ toàn thân hoặc bệnh viêm thận do luput.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế mô tả cách sử dụng protein bất kỳ trong số các protein đặc hiệu kép được đề xuất trong bản mô tả này làm được phẩm.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1: Các biểu đồ của các protein đặc hiệu kép mà liên kết với BAFF và B7RP1. Ngang qua hàng trên cùng là yếu tố nhận diện của mỗi cấu trúc được liệt kê. Ngang qua hàng thứ hai là cụm từ mô tả vắn tắt liên quan đến cấu trúc của mỗi cấu trúc. Ngang qua hàng dưới cùng là biểu đồ về cấu trúc của mỗi cấu trúc. Các hình bầu dục không có đường gạch ngang là các vùng ổn định của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch. Các hình bầu dục có các đường gạch ngang là các vùng biến đổi (VH hoặc VL) của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch. Các vòng và các hình vuông nhỏ được biểu thị là các peptit liên kết với BAFF. Các vùng bản lề được thể hiện ở dạng đường thẳng đứng nét đậm, trong khi các cầu liên kết disulfua được thể hiện ở dạng đường nằm ngang nét đậm. Trình tự của “G4S” trên hình 1 được bộc lộ trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 72.

Hình 2: Hoạt tính của các protein đặc hiệu kép trong thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào B của người. Dữ liệu được thể hiện trên hình 2A (trên cùng) và 2B (dưới cùng) là từ các thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào B được thực hiện như được mô tả trong ví dụ 1. Trong cả hai biểu đồ, trục x biểu thị nồng độ ($\log[nM]$) của protein đặc hiệu kép chứa trong hỗn hợp thử nghiệm, và trục y biểu thị lượng hấp thụ 3H -thymidin (số đếm được trong mỗi phút (counts per minute - cpm)). Ý nghĩa của mỗi ký hiệu được biểu thị bằng một yếu tố nhận diện của mỗi protein được thử nghiệm. Ý nghĩa của các yếu tố nhận diện được thể hiện trên hình 1 và được giải thích trong ví dụ 1.

Hình 3: Hoạt tính của các protein đặc hiệu kép trong thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào T của người. Dữ liệu được thể hiện là từ thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào T

được thực hiện như được mô tả trong ví dụ 1. Trục x biểu thị nồng độ ($\log[nM]$) của kháng thể đặc hiệu kép hoặc kháng thể $\alpha B7RP1$ trong hỗn hợp thử nghiệm, và trục y biểu thị phần trăm của mức hấp thụ 3H -thymidin trong tế bào T khi có mặt các chất ức chế B7RP1 ở các nồng độ được chỉ ra so với mức hấp thụ 3H -thymidin trong tế bào T khi không có các chất ức chế B7RP1 (phần trăm của đối chứng). Yếu tố nhận diện của mỗi protein được thử nghiệm được biểu thị.

Hình 4: Quá trình giải phóng xytokin bởi các tế bào amidan của người được kích thích bằng độc tố B của *Staphylococcus* (*Staphylococcus enterotoxin B* - SEB). Các phương pháp được mô tả trong ví dụ 1. Các trục y biểu thị mức tín hiệu phát hiện được của các xytokin khác nhau đo được bằng cách sử dụng kit do Meso Scale Discovery (Rockville, Maryland) cung cấp theo các hướng dẫn của nhà sản xuất. Các tế bào này được xử lý bằng $\alpha B7RP1$ (cột 1), P74293 (cột 2), CTLA4-Ig (cột 3), hoặc IgG của người (cột 4). Các xytokin đã được thử nghiệm được biểu thị trên hình này.

Hình 5: Tính chất dược động học của các cấu trúc đặc hiệu kép ở chuột. Các phương pháp đánh giá các tính chất dược động học *in vivo* của P71617, P71619, P71621, P71622, P74293, và P74294 ở chuột được mô tả trong ví dụ 1. Như được giải thích trong ví dụ 1, các protein đặc hiệu kép được phát hiện bằng hai thử nghiệm khác nhau, một trong số hai thử nghiệm phát hiện chỉ phần Fc của các protein (các điểm dữ liệu được biểu thị bằng các hình thoi được gạch kín; thử nghiệm Fc) và một trong số hai thử nghiệm phát hiện cả phần Fc và phần liên kết với BAFF của các protein (các điểm dữ liệu được biểu thị bằng các hình vuông được gạch kín; thử nghiệm nguyên vẹn). Trục x biểu thị thời gian sau khi tiêm (giờ), và trục y biểu thị nồng độ của protein được phát hiện trong huyết thanh (ng/ml). Cấu trúc được tiêm thuốc kiểm chứng được biểu thị trong mỗi biểu đồ.

Hình 6A: Sự ức chế sự tăng sinh tế bào B của chuột bằng phân tử thay thế đặc hiệu kép của chuột (“thuốc thay thế của chuột”) mà liên kết với BAFF và B7RP1. Thử nghiệm này được thực hiện như được mô tả trong ví dụ 2. Thuốc thay thế của chuột là kháng thể IgG kháng B7RP1 của chuột mà có hai bản sao của peptit liên kết với BAFF được gắn vào đầu tận cùng C của chuỗi nặng của globulin miễn dịch của kháng thể, như được giải thích trong ví dụ 2. Đối chứng dương tính là thể peptit liên

kết với BAFF (“ α BAFF”). Dữ liệu từ thuốc thay thế của chuột và α BAFF lần lượt được biểu thị bằng các hình tròn và hình vuông được gạch kín. Trục x biểu thị nồng độ của các protein thử nghiệm này trong thử nghiệm ($\log[pM]$), và trục y biểu thị mức sát nhập 3H -thymidin (cpm).

Hình 6B: Sự ức chế quá trình liên kết của B7RP1 với các tế bào T của chuột bằng thuốc thay thế của chuột. Thử nghiệm này được thực hiện như được mô tả trong ví dụ 2. Kháng thể IgG kháng B7RP1 của chuột (“chất kháng mB7RP1”) được sử dụng làm đối chứng dương tính. Dữ liệu từ thuốc thay thế của chuột và chất kháng mB7RP1 lần lượt được biểu thị bằng các hình tròn và hình vuông được gạch kín. Trục x biểu thị nồng độ của các protein thử nghiệm này trong thử nghiệm ($\log[pM]$), và trục y biểu thị phần trăm của B7RP1-Fc của chuột liên kết với các tế bào T.

Hình 7: Các tác dụng *in vivo* đối với các thông số miễn dịch học của việc cho chuột dùng hồng cầu của cừu. Tất cả các kết quả được thể hiện trên hình này là từ các thử nghiệm được mô tả trong ví dụ 2. Các protein dùng để điều trị bệnh cho chuột được biểu thị bằng kiểu điền vào mỗi cột như sau: không có đường gạch ngang, chất kháng mB7RP1; các đường thẳng đứng, α BAFF; các đường nằm ngang, chất kháng mB7RP1 cộng với α BAFF; các đường chéo, thuốc thay thế của chuột; kiểu bàn cờ, mIgG1; và kiểu gạch kín (chỉ trong đồ thị dưới cùng), các con chuột không được cho dùng liều kiểm chứng SRBC. *Đồ thị trên cùng*, tỷ lệ phần trăm của tế bào B lách ở chuột được cho dùng liều kiểm chứng hồng cầu của cừu (SRBC). Trục y biểu thị phần trăm của các tế bào từ lách là tế bào B. *Đồ thị ở giữa*, tỷ lệ phần trăm của các tế bào T CD4⁺ của lách là tế bào T nhớ ở chuột được cho dùng liều kiểm chứng SRBC. *Đồ thị dưới cùng*, các lượng kháng thể kháng SRBC trong huyết thanh từ các con chuột được cho dùng liều kiểm chứng SRBC.

Hình 8A: Bệnh protein-niệu ở chuột NZB/NZW được điều trị bệnh bằng các protein khác nhau. Các phương pháp được mô tả trong ví dụ 2. Phương pháp điều trị bệnh cho mỗi nhóm chuột được biểu thị như sau: các hình tròn được gạch kín, dung dịch muối được đệm phosphat (phosphate buffered saline - PBS); các hình vuông được gạch kín, IgG1 của chuột (đối chứng kiểu tương đương; 5mg/kg); các hình vuông để trống, chất kháng mB7RP1 (4,68mg/kg); các hình tam giác có đỉnh

hướng lên được gạch kín, α BAFF (1,88mg/kg); các hình tam giác có đỉnh hướng lên để trống, α BAFF (1,88mg/kg) cộng với chất kháng mB7RP1 (4,68mg/kg); và các hình tam giác có đỉnh hướng xuống để trống, thuốc thay thế của chuột (5mg/kg). Trục x biểu thị tuổi của các con chuột (tháng), và trục y biểu thị phần trăm của các con chuột mà đã thể hiện bệnh protein-niệu, tức là ≥ 300 mb/dl protein trong nước tiểu.

Hình 8B: Các lượng các kháng thể kháng lại ADN dải kép (double stranded DNA - dsDNA) ở chuột NZB/NZW vào thời điểm 8,5 tháng tuổi được điều trị bệnh bằng các protein khác nhau. Các phương pháp được mô tả trong ví dụ 2. Trục x biểu thị độ đồng nhất của (các) phân tử điều trị bệnh cho chuột như sau: 1, chất kháng mB7RP1 (4,68mg/kg); 2, α BAFF (1,88mg/kg); 3, α BAFF (1,88mg/kg) cộng với chất kháng mB7RP1 (4,68mg/kg); 4, thuốc thay thế đặc hiệu kép của chuột (5mg/kg); và 5, mIgG1 (đối chứng kiểu tương đương; 5mg/kg). Trục y biểu thị các lượng kháng thể kháng dsDNA đo được ở dạng tỷ lệ phần trăm của đối chứng dương tính. Mỗi chấm biểu thị dữ liệu từ một con chuột đơn lẻ.

Hình 9A: Các lượng IgG kháng AND dải kép (dsDNA) ở các con chuột NZB/NZW. Các phương pháp được mô tả trong ví dụ 2. Dữ liệu từ các nhóm chuột khác nhau được nhận diện như sau: 1, các con chuột mà đã tiếp nhận chất kháng mB7RP1 (14mg/kg); 2, các con chuột mà đã tiếp nhận α BAFF (5,6mg/kg); 3, các con chuột mà đã tiếp nhận hỗn hợp gồm chất kháng mB7RP1 (14mg/kg) và α BAFF (5,6mg/kg); 4, các con chuột mà đã tiếp nhận thuốc thay thế của chuột (15mg/kg); 5, các con chuột mà đã tiếp nhận đối chứng kiểu tương đương mIgG (15mg/kg); và 6, các con chuột mà đã tiếp nhận PBS. Các dấu hoa thị bên trên các cột 1, 3, và 4 biểu thị mức khác biệt đáng kể (*, $p < 0,05$; ***, $p < 0,0001$) giữa dữ liệu ở các cột này và dữ liệu từ cột 5 (mIgG).

Hình 9B: Tỷ lệ phần trăm của các con chuột NZB/W F₁ trong mỗi nhóm mắc bệnh protein-niệu. Các phương pháp được mô tả trong ví dụ 2. Dữ liệu từ các nhóm chuột khác nhau được nhận diện như sau: các hình vuông để trống, các con chuột mà đã tiếp nhận chất kháng mB7RP1 (14mg/kg); các hình tam giác có đỉnh hướng lên được gạch kín, các con chuột mà đã tiếp nhận α BAFF (5,6mg/kg); các hình tam giác có đỉnh hướng lên để trống, các con chuột mà đã tiếp nhận hỗn hợp gồm chất

kháng mB7RP1 (14mg/kg) và α BAFF (5,6mg/kg); các hình tam giác có đỉnh hướng xuống để trống, các con chuột mà đã tiếp nhận thuốc thay thế của chuột (15mg/kg); các hình vuông được gạch kín, các con chuột mà đã tiếp nhận đối chứng kiểu tương đương mIgG (15mg/kg); và các hình tròn được gạch kín, các con chuột mà đã tiếp nhận PBS. Các khác biệt đáng kể được phát hiện giữa thuốc thay thế của chuột so với chất kháng mB7RP1 ($p < 0,01$), α BAFF ($p < 0,0001$), và mIgG ($p < 0,0001$). Khung thời gian mà trong đó quá trình điều trị bệnh diễn ra được biểu thị.

Hình 10: Điểm số của thận chuột NZB/W F₁. Như được giải thích trong ví dụ 2, thận được thu khi chuột chết, nếu điều đó xảy ra trước khi kết thúc nghiên cứu này, hoặc vào lúc kết thúc nghiên cứu này. Các điểm số thận được xác định như được mô tả trong ví dụ 2, các điểm số cao hơn biểu thị bệnh thận nặng hơn. Được thể hiện là các mức trung bình của mỗi nhóm chuột cộng với các cột sai số thích hợp. Các nhóm chuột đã tiếp nhận các phương pháp điều trị bệnh sau: 1) chất kháng mB7RP1 (14mg/kg), cột được gạch bằng các đường thẳng đứng; 2) α BAFF (5,6mg/kg), cột có các đường gạch ngang; 3) hỗn hợp gồm chất kháng mB7RP1 (14mg/kg) và α BAFF (5,6mg/kg), cột được gạch bằng đường sọc ô cửa sổ; 4) thuốc thay thế của chuột (15mg/kg), cột được gạch bằng họa tiết kiểu bàn cờ; 5) mIgG (15mg/kg), cột được gạch bằng các chấm trắng trên nền đen; và 6) PBS, cột được gạch kín hết. Các dấu hoa thị biểu thị sự khác biệt đáng kể từ các con chuột được điều trị bệnh bằng mIgG với trị số $p < 0,05$ (*) hoặc $< 0,001$ (**).

Hình 11: Các tác dụng ức chế của BAFF và/hoặc B7RP1 đối với bệnh viêm khớp do collagen gây ra ở chuột. Các phương pháp được mô tả trong ví dụ 4. Năm nhóm chuột được điều trị bệnh bằng các chất thử nghiệm được biểu thị như sau: mIgG, các hình vuông được gạch kín được kết nối bằng các đường nét liền; PBS, các hình vuông được gạch kín được kết nối bằng các đường nét đứt; chất kháng mB7RP1, các hình tròn được gạch kín được kết nối bằng các đường nét đứt; α BAFF, các hình tròn để trống được kết nối bằng các đường nét liền; và hỗn hợp gồm chất kháng mB7RP1 và α BAFF, các hình tròn được gạch kín được kết nối bằng các đường nét liền. Biểu đồ trên cùng thể hiện tỷ lệ mắc bệnh viêm khớp tính theo phần trăm của các nhóm khác nhau, và đồ thị dưới cùng thể hiện các điểm số bệnh viêm khớp ở

mức trung bình của các nhóm này. Mũi tên thẳng đứng hướng xuống trong mỗi đồ thị thể hiện thời gian của lần tạo miễn dịch thứ hai bằng collagen của bò.

MÔ TẢ VẮN TẮT CÁC DANH MỤC TRÌNH TỰ

SỐ DANH MỤC TRÌNH TỰ	MÔ TẢ
SEQ ID NO:1	Trình tự axit amin của peptit liên kết với BAFF
SEQ ID NO:2	Trình tự axit amin của peptit liên kết với BAFF
SEQ ID NO:3	Trình tự axit amin của peptit liên kết với BAFF
SEQ ID NO:4	Trình tự axit amin của nhóm liên kết
SEQ ID NO:5	Trình tự axit amin của nhóm liên kết
SEQ ID NO:6	Trình tự axit amin của nhóm liên kết
SEQ ID NO:7	Trình tự axit amin của nhóm liên kết
SEQ ID NO:8	Trình tự axit amin của CDR1 của chuỗi nhẹ
SEQ ID NO:9	Trình tự axit amin của CDR2 của chuỗi nhẹ
SEQ ID NO:10	Trình tự axit amin của CDR3 chuỗi nhẹ
SEQ ID NO:11	Trình tự axit amin của CDR1 của chuỗi nặng
SEQ ID NO:12	Trình tự axit amin của CDR2 của chuỗi nặng
SEQ ID NO:13	Trình tự axit amin của CDR3 của chuỗi nặng
SEQ ID NO:14	Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ
SEQ ID NO:15	Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng
SEQ ID NO:16	Trình tự axit amin của chuỗi nặng của phân tử đặc hiệu kép P71619 BAFF/B7RP1
SEQ ID NO:17	Trình tự axit amin của chuỗi nặng của phân tử P74293 đặc hiệu kép BAFF/B7RP1
SEQ ID NO:18	Trình tự axit amin của chuỗi nặng của phân tử đặc hiệu kép P74294 BAFF/B7RP1
SEQ ID NO:19	Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch của kháng thể IgG kháng huB7RP1
SEQ ID NO:20	Trình tự axit amin trước CDR1 của chuỗi nặng
SEQ ID NO:21	Trình tự axit amin trước CDR2 của chuỗi nặng
SEQ ID NO:22	Trình tự axit amin sau CDR3 của chuỗi nặng
SEQ ID NO:23	Trình tự axit amin sau CDR3 chuỗi nhẹ
SEQ ID NO:24	Nhóm liên kết
SEQ ID NO:25	Trình tự axit amin của chuỗi nặng của globulin miễn dịch của kháng thể IgG kháng B7RP1
SEQ ID NO:26	Trình tự axit amin của chuỗi nặng của cấu trúc P71617
SEQ ID NO:27	Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của cấu trúc P71618
SEQ ID NO:28	Trình tự axit amin của chuỗi nặng của cấu trúc P71620
SEQ ID NO:29	Trình tự axit amin của chuỗi nặng của cấu trúc P71621
SEQ ID NO:30	Trình tự axit amin của chuỗi nặng của cấu trúc P71622

SỐ DANH MỤC TRÌNH TỰ	MÔ TẢ
SEQ ID NO:31	Trình tự axit amin của chuỗi nặng của cấu trúc P71623
SEQ ID NO:32	Trình tự axit amin của thể peptit α BAFF
SEQ ID NO:33	Trình tự axit amin của vùng Fc của IgG1 của người
SEQ ID NO:34	Trình tự axit amin của vùng Fc của IgG2 của người
SEQ ID NO:35	Trình tự axit amin của vùng Fc của IgG3 của người
SEQ ID NO:36	Trình tự axit amin của vùng Fc của IgG4 của người
SEQ ID NO:37	Trình tự axit amin của nhóm liên kết
SEQ ID NO:38	Trình tự axit amin của nhóm liên kết
SEQ ID NO:39	Trình tự axit amin của nhóm liên kết
SEQ ID NO:40	Trình tự axit amin của nhóm liên kết
SEQ ID NO:41	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:1
SEQ ID NO:42	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:4
SEQ ID NO:43	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:5
SEQ ID NO:44	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:6
SEQ ID NO:45	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:7
SEQ ID NO:46	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:8
SEQ ID NO:47	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:9
SEQ ID NO:48	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:10
SEQ ID NO:49	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:11
SEQ ID NO:50	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:12
SEQ ID NO:51	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:13
SEQ ID NO:52	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:14
SEQ ID NO:53	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:15
SEQ ID NO:54	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:16
SEQ ID NO:55	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:17
SEQ ID NO:56	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:18
SEQ ID NO:57	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19
SEQ ID NO:58	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:24
SEQ ID NO:59	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:25
SEQ ID NO:60	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:26
SEQ ID NO:61	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:27
SEQ ID NO:62	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:28
SEQ ID NO:63	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:29
SEQ ID NO:64	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:30
SEQ ID NO:65	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:31
SEQ ID NO:66	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:32
SEQ ID NO:67	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:33

SỐ DANH MỤC TRÌNH TỰ	MÔ TẢ
SEQ ID NO:68	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:34
SEQ ID NO:69	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:35
SEQ ID NO:70	Trình tự axit nucleic mã hóa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:36
SEQ ID NO:71	Trình tự axit amin của nhóm liên kết
SEQ ID NO:72	Trình tự axit amin của nhóm liên kết

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất các protein đặc hiệu kép mà liên kết với và ức chế cả yếu tố hoạt hóa tế bào B (B cell activating factor - BAFF; còn được gọi là BLYS, TALL1, THANK, hay TNFSF13B) và protein 1 liên quan đến B7 (B7-related protein 1 - B7RP1; còn được gọi là phối tử ICOS, ICOSL, LICOS, B7 chất đồng đẳng 2, B7H2, và GL50), các axit nucleic mã hóa các protein đặc hiệu kép này, và các phương pháp tạo và sử dụng các protein này. Các protein đặc hiệu kép có thể ức chế cả quá trình tăng sinh tế bào B do BAFF gây ra và quá trình tăng sinh tế bào T do B7RP1 gây ra. Theo một khía cạnh khác, các protein đặc hiệu kép có thể ức chế quá trình liên kết của B7RP1 với các tế bào T. Protein đặc hiệu kép này có thể là kháng thể IgG chứa hai chuỗi nặng khác nhau của globulin miễn dịch và hai chuỗi nhẹ khác nhau của globulin miễn dịch, trong đó một cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ liên kết với BAFF và cặp kia liên kết với B7RP1. Theo cách khác, phần liên kết với B7RP1 của protein đặc hiệu kép có thể chứa kháng thể IgG, kể cả hai chuỗi nặng đồng nhất và hai chuỗi nhẹ đồng nhất, và phần liên kết với BAFF của protein đặc hiệu kép có thể chứa một hoặc nhiều peptit liên kết với BAFF, chất này có thể được dung hợp với kháng thể kháng B7RP1, tùy ý thông qua đầu tận cùng N của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch, đầu tận cùng carboxy của chuỗi nặng của globulin miễn dịch, và/hoặc trong vùng CH2 và/hoặc vùng CH3 của chuỗi nặng của globulin miễn dịch.

Định nghĩa

“**Kháng thể**”, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là protein chứa vùng biến đổi của chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch.

Protein “**đặc hiệu kép**”, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là protein mà có thể liên kết đặc hiệu với hai phân tử khác nhau, mà theo một số phương án, phân tử này là protein. Ví dụ, theo một số phương án, protein đặc hiệu kép có thể liên kết với cả BAFF và B7RP1.

Bệnh nhân tiếp nhận việc điều trị “**đồng thời**” theo hai hoặc nhiều phương pháp điều trị bệnh khi bệnh nhân tiếp nhận hai hoặc nhiều phương pháp điều trị bệnh này trong suốt cùng một khung thời gian chung, tùy ý vào chính cùng một thời điểm. Ví dụ, nếu bệnh nhân được cho dùng một chất trị liệu hằng ngày trên cơ sở diễn ra liên tục và cũng được cho dùng một chất trị liệu khác một lần mỗi tháng trên cơ sở diễn ra liên tục, thì bệnh nhân này thường tiếp nhận hai loại thuốc này một cách đồng thời. Tương tự, bệnh nhân được cho dùng hai chất trị liệu khác nhau, mỗi chất được cho dùng hai tuần một lần, nhưng không cùng một ngày, thường tiếp nhận phương pháp điều trị bệnh đồng thời với hai chất trị liệu. Ngoài ra, bệnh nhân tiếp nhận một chất trị liệu trên cơ sở diễn ra liên tục mỗi tuần một lần và một chất trị liệu khác một lần mỗi ngày chỉ trong ba ngày thường tiếp nhận phương pháp điều trị bệnh trong một khoảng thời gian ngắn với hai chất trị liệu này.

Như được định nghĩa trong bản mô tả này, “**vùng Fc**” là dime chứa hai chuỗi polypeptit được nối bằng một hoặc nhiều liên kết disulfua, mỗi chuỗi chứa một phần hoặc tất cả miền bản lề cộng với miền CH2 và miền CH3. Mỗi chuỗi trong số các chuỗi polypeptit này được gọi là “**chuỗi polypeptit Fc**”. Cụ thể hơn, các vùng Fc được dự định để sử dụng theo sáng chế là các vùng Fc của IgG, vùng này có thể là vùng Fc của IgG của động vật có vú, ví dụ, vùng Fc của IgG1, IgG2, IgG3, hoặc vùng Fc của IgG4 của người. Trong số các vùng Fc của IgG1 của người, ít nhất hai loại alen là đã biết. Các trình tự axit amin của chuỗi polypeptit Fc có thể thay đổi so với axit amin của polypeptit Fc của động vật có vú là không nhiều hơn 20, 15, 12, 10, 8, 5, hoặc 3 đoạn thay thế, đoạn chèn, hoặc đoạn xóa bỏ của một axit amin so với trình tự axit amin của polypeptit Fc của động vật có vú. Theo cách khác hoặc ngoài ra, trình tự axit amin của chuỗi polypeptit Fc có thể thay đổi so với trình tự của chuỗi polypeptit Fc có trong tự nhiên hoặc đã biết là có không nhiều hơn 10 đoạn chèn, đoạn xóa bỏ, hoặc đoạn thay thế của một axit amin trong mỗi 100 axit amin của trình tự này. Theo một số phương án, các thay đổi này có thể là “các thay

đổi heterodime hóa” mà tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tạo ra heterodime so với homodime. Khi đề cập đến các vị trí cụ thể trong chuỗi polypeptit Fc, hệ thống đánh số EU (Edelman *et al.* (1969), *Proc. Natl. Acad. Sci.* 63: 78-85) được sử dụng, như được minh họa ở dạng xếp thẳng hàng IgG của chuỗi polypeptit Fc của người trong bảng 1 sau.

Bảng 1: Dạng xếp thẳng hàng các trình tự axit amin của vùng Fc của IgG của người

IgG1	-----
IgG2	-----
IgG3	ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP
IgG4	-----

	225	235	245	255	265	275
	*	*	*	*	*	*
IgG1	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF					
IgG2	ERKCCVE---CPPCPAPPVA-GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF					
IgG3	EPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF					
IgG4	ESKYG---PPCSPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQF					

	285	295	305	315	325	335
	*	*	*	*	*	*
IgG1	NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT					
IgG2	NWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT					
IgG3	KWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT					
IgG4	NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT					

	345	355	365	375	385	395
	*	*	*	*	*	*
IgG1	ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP					
IgG2	ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP					
IgG3	ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTP					
IgG4	ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP					

	405	415	425	435	445
	*	*	*	*	*
IgG1	PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:33)				
IgG2	PMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:34)				

IgG3 PMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMEALHNRFQTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:35)

IgG4 PVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:36)

Ở một số vị trí, các hiện tượng đa hình có trong tự nhiên có thể xảy ra. Ví dụ, metionin ở vị trí 282 trong trình tự IgG2 được đưa ra trên đây thông thường hơn là valin trong các trình tự IgG2 có trong tự nhiên. Tương tự, tyrosin ở vị trí 296 trong trình tự IgG3 cũng có thể là phenylalanin.

Nói chung, “**các thay đổi heterodime hóa**” được dùng để chỉ các thay đổi trong vùng CH3 của hai chuỗi nặng khác nhau của IgG mà tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tạo ra dime chuỗi nặng heterodime, tức là các chuỗi nặng được dime hóa mà không có các trình tự axit amin đồng nhất. Các thay đổi heterodime hóa có thể là không đối xứng, tức là một chuỗi nặng có một sự thay đổi nhất định có thể ghép cặp với một chuỗi nặng khác có một sự thay đổi khác. Các thay đổi này tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình heterodime hóa và gây bất lợi cho quá trình homodime hóa. Một ví dụ về các thay đổi heterodime hóa được ghép cặp như vậy là loại được gọi là đoạn thay thế “chốt và lỗ”. Ví dụ, xem patent Mỹ 7,695,936 và công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ 2003/0078385, có các phần mô tả đột biến như vậy được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Như được định nghĩa trong bản mô tả này, cặp chuỗi nặng-chuỗi nặng mà chứa một cặp đoạn thay thế chốt và lỗ, chứa một đoạn thay thế trong một chuỗi nặng và một đoạn thay thế kia trong chuỗi nặng kia. Ví dụ, các đoạn thay thế chốt và lỗ sau đã được phát hiện ra là làm tăng mức tạo heterodime so với đoạn thay thế được phát hiện với các chuỗi nặng không được cải biến: 1) Y407T trong một chuỗi và T366Y trong chuỗi kia; 2) Y407A trong một chuỗi và T366W trong chuỗi kia; 3) F405A trong một chuỗi và T394W trong chuỗi kia; 4) F405W trong một chuỗi và T394S trong chuỗi kia; 5) Y407T trong một chuỗi và T366Y trong chuỗi kia; 6) T366Y và F405A trong một chuỗi và T394W và Y407T trong chuỗi kia; 7) T366W và F405W trong một chuỗi và T394S và Y407A trong chuỗi kia; 8) F405W và Y407A trong một chuỗi và T366W và T394S trong chuỗi kia; và 9) T366W trong một polypeptit của Fc và T366S, L368A, và Y407V trong polypeptit kia. Như được định nghĩa trong bản mô tả này, đột biến ở polypeptit Fc được ghi theo cách sau. Axit amin (sử dụng mã một chữ) thường có mặt ở vị trí nhất định trong vùng CH3 bằng cách sử dụng hệ thống đánh số EU (hệ

thống này được trình bày trong tài liệu: Edelman *et al.* (1969), *Proc. Natl. Acad. Sci.* 63: 78-85), sau đó là số vị trí theo EU, sau vị trí này là axit amin xen kẽ mà có mặt ở vị trí đó. Ví dụ, Y407T có nghĩa là tyrosin thường có mặt ở vị trí 407 theo EU được thay bằng threonin. Để dễ hiểu, hệ thống đánh số EU được minh họa trong bảng 1 sau. Theo cách khác hoặc ngoài các thay đổi này ra, các đoạn thay thế tạo ra cầu liên kết disulfua mới có thể tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tạo heterodime. Ví dụ, xem: công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ 2003/0078385, có các phần mô tả đột biến như vậy được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Các thay đổi như vậy trong vùng Fc của IgG1 bao gồm, ví dụ, các đoạn thay thế sau đây: Y349C trong một chuỗi polypeptit-Fc và S354C trong chuỗi kia; Y349C trong một chuỗi polypeptit-Fc và E356C trong chuỗi kia; Y349C trong một chuỗi polypeptit-Fc và E357C trong chuỗi kia; L351C trong một chuỗi polypeptit-Fc và S354C trong chuỗi kia; T394C trong một chuỗi polypeptit-Fc và E397C trong chuỗi kia; hoặc D399C trong một chuỗi polypeptit-Fc và K392C trong chuỗi kia. Tương tự, các đoạn thay thế làm thay đổi điện tích của một hoặc nhiều gốc, ví dụ, trong mặt phân cách CH₃-CH₃, có thể tăng mức tạo heterodime như được giải thích trong WO 2009/089004, có các phần mô tả các đoạn thay thế như vậy được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Các đoạn thay thế như vậy trong bản mô tả này được gọi là “các đoạn thay thế cặp điện tích”, và vùng Fc chứa một cặp gồm các đoạn thay thế cặp điện tích chứa một đoạn thay thế trong một chuỗi nặng và đoạn thay thế kia trong chuỗi kia. Các ví dụ chung về các đoạn thay thế cặp điện tích bao gồm các loại sau: 1) R409D, R409E, K409D, hoặc K409E trong một chuỗi cộng với D399K hoặc D399R trong chuỗi kia; 2) N392D, N392E, K392D, hoặc K392E trong một chuỗi cộng với D399K hoặc D399R trong chuỗi kia; 3) K439D hoặc K439E trong một chuỗi cộng với E356K, E356R, D356K, hoặc D356R trong chuỗi kia; và 4) K370D hoặc K370E trong một chuỗi cộng với E357K hoặc E357R trong chuỗi kia. Ngoài ra, các đoạn thay thế Q355D, Q355E, R355D, R355E, K360D, hoặc K360R ở cả hai chuỗi có thể làm ổn định heterodime khi được sử dụng với các thay đổi heterodime hóa khác. Các đoạn thay thế cặp điện tích đặc hiệu có thể được sử dụng một mình hoặc với các đoạn thay thế cặp điện tích khác. Các ví dụ cụ thể về các cặp đơn của các đoạn thay thế cặp điện tích và các dạng kết hợp của chúng bao gồm các loại sau đây: 1) K409E

trong một chuỗi cộng với D399K trong chuỗi kia; 2) K409E trong một chuỗi cộng với D399R trong chuỗi kia; 3) K409D trong một chuỗi cộng với D399K trong chuỗi kia; 4) K409D trong một chuỗi cộng với D399R trong chuỗi kia; 5) K392E trong một chuỗi cộng với D399R trong chuỗi kia; 6) K392E trong một chuỗi cộng với D399K trong chuỗi kia; 7) K392D trong một chuỗi cộng với D399R trong chuỗi kia; 8) K392D trong một chuỗi cộng với D399K trong chuỗi kia; 9) K409D và K360D trong một chuỗi cộng với D399K và E356K trong chuỗi kia; 10) K409D và K370D trong một chuỗi cộng với D399K và E357K trong chuỗi kia; 11) K409D và K392D trong một chuỗi cộng với D399K, E356K, và E357K trong chuỗi kia; 12) K409D và K392D trong một chuỗi và D399K trong chuỗi kia; 13) K409D và K392D trong một chuỗi cộng với D399K và E356K trong chuỗi kia; 14) K409D và K392D trong một chuỗi cộng với D399K và E357K trong chuỗi kia; 15) K409D và K370D trong một chuỗi cộng với D399K và E357K trong chuỗi kia; 16) D399K trong một chuỗi cộng với K409D và K360D trong chuỗi kia; và 17) K409D và K439D trong một chuỗi cộng với D399K và E356K trong chuỗi kia. Thay đổi bất kỳ trong số các thay đổi heterodime hóa này có thể là một phần của chuỗi nặng của globulin miễn dịch IgG như được bộc lộ trong bản mô tả này.

Kháng thể hoặc protein “của người”, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là kháng thể hoặc protein được mã hóa bởi trình tự axit nucleic có nguồn gốc từ người. Kháng thể hoặc protein của người có thể được tạo ra trong các tế bào không phải của người được nuôi cấy hoặc *in vivo* trong sinh vật chuyển gen mà phân tử axit nucleic mã hóa kháng thể hoặc protein của người đã được đưa vào đó. Theo cách khác, kháng thể hoặc protein của người có thể được tạo ra trong các tế bào của người được nuôi cấy hoặc ở người *in vivo*.

“**Kháng thể IgG**”, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là kháng thể mà về cơ bản chứa các miền globulin miễn dịch có mặt trong hầu hết các kháng thể IgG có trong tự nhiên, tức là chuỗi nặng của globulin miễn dịch chứa vùng biến đổi của chuỗi nặng (VH), vùng ổn định của chuỗi nặng thứ nhất (CH1), vùng bản lề, vùng ổn định của chuỗi nặng thứ hai (CH2), và vùng ổn định của chuỗi nặng thứ ba (CH3) và chuỗi nhẹ chứa vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (VL) và vùng ổn định của chuỗi nhẹ (CL). Nhiều trình tự khác nhau của các miền globulin miễn dịch này

được thông báo trong tài liệu khoa học, ví dụ, trong SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, Public Health Service, N.I.H., Bethesda, MD, 1991. Kháng thể IgG, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là tetrame về cơ bản chứa hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ. Các kháng thể có trong tự nhiên, trong đó chỉ có hai chuỗi nặng của globulin miễn dịch và không có chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch, như một số được tìm thấy ở lạc đà và cá mập (ví dụ, xem tài liệu: Muyldermans *et al.*, 2001, *J. Biotechnol.* 74:277-302; Desmyter *et al.*, 2001, *J. Biol. Chem.* 276:26285-90; Streltsov *et al.* (2005), *Protein Science* 14: 2901-2909), không phải là “các kháng thể IgG” như được định nghĩa trong bản mô tả này. Kháng thể IgG có thể là của người hoặc có thể là từ một loài khác. Ngoài ra, kháng thể IgG có thể chứa tối đa 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, hoặc 5 đoạn thay thế, đoạn chèn, và/hoặc đoạn xóa bỏ của một axit amin đơn lẻ so với trình tự axit amin của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể IgG có trong tự nhiên.

“**Chuỗi nặng của globulin miễn dịch**” được dùng để chỉ chuỗi nặng của kháng thể IgG, IgA, IgM, IgE, hoặc kháng thể IgD hoặc các biến thể của chúng chứa không nhiều hơn 40, 30, 25, 20, 15, 10, hoặc 5 đoạn chèn, đoạn xóa bỏ, hoặc đoạn thay thế của một axit amin so với chuỗi nặng của globulin miễn dịch được mã hóa bởi trình tự axit nucleic có trong tự nhiên. “**Chuỗi nặng của globulin miễn dịch IgG**” bị giới hạn ở các chuỗi nặng từ các kháng thể IgG hoặc các biến thể của chúng chứa không nhiều hơn 40, 30, 25, 20, 15, 10, hoặc 5 đoạn chèn, đoạn xóa bỏ, hoặc đoạn thay thế của một axit amin so với trình tự axit amin của chuỗi nặng của IgG được mã hóa bởi trình tự axit nucleic có trong tự nhiên. Chuỗi nặng của globulin miễn dịch về cơ bản chứa một số vùng hoặc miền riêng biệt, kể cả vùng VH, vùng CH1, vùng bản lề, vùng CH2, và vùng CH3. Trong một số kiểu tương đương khác, tức là IgM và IgA, các vùng bổ sung nằm sau vùng CH3. Các chuỗi nặng của globulin miễn dịch và các vùng nằm trong đó được mô tả khái quát, ví dụ, trong tài liệu: Carayannopoulos and Capra, *Immunoglobulins: Structure and Function*, pp. 283-314 trong FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY, 3rd Ed, Paul, ed., Raven Press, New York, 1993, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Ngoài ra, nhiều trình tự khác nhau của các vùng con của các chuỗi nặng của globulin miễn dịch đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, xem tài liệu: Kabat *et al.*, SEQUENCES

OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD, 1991. Trong một số trường hợp, chuỗi polypeptit mà chứa chuỗi nặng của globulin miễn dịch cộng với một số trình tự không globulin miễn dịch trong bản mô tả này được gọi là “chuỗi nặng”.

“**Chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch**”, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là chuỗi kapa hoặc chuỗi lamda từ kháng thể của người hoặc kháng thể từ một loài khác. Cũng nằm trong số các chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là các protein có không nhiều hơn 20, 15, 10, hoặc 5 đoạn chèn, đoạn xóa bỏ, và/hoặc đoạn thay thế của một axit amin so với chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch được mã hóa bởi trình tự axit nucleic có nguồn gốc tự nhiên. Các chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch được mô tả khái quát, ví dụ, trong tài liệu: Carayannopoulos and Capra, *Immunoglobulins: Structure and Function*, pp. 283-314 trong FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY, 3rd Ed, Paul, ed., Raven Press, New York, 1993, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch chứa vùng VL và vùng CL. Nhiều trình tự khác nhau của các vùng này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, xem tài liệu: Kabat *et al.*, SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD, 1991. Trong một số trường hợp, chuỗi polypeptit mà chứa chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch cộng với một số trình tự không globulin miễn dịch trong bản mô tả này được gọi là “chuỗi nhẹ”.

“**Vùng biến đổi của globulin miễn dịch**”, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là vùng VH hoặc vùng VL, vùng này có thể có nguồn gốc từ người hoặc từ một loài khác. Các vùng biến đổi của globulin miễn dịch được mô tả khái quát, ví dụ, trong tài liệu: Carayannopoulos and Capra, *Immunoglobulins: Structure and Function*, pp. 283-314 in FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY, 3rd Ed, Paul, ed., Raven Press, New York, 1993, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Cũng nằm trong số các vùng biến đổi của globulin miễn dịch, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là các protein có không nhiều hơn 20, 15, 10, hoặc 5 đoạn chèn, đoạn xóa bỏ, và/hoặc đoạn thay thế của một axit amin so với vùng biến đổi của globulin miễn dịch được mã hóa bởi trình tự axit nucleic có nguồn gốc tự nhiên. Vùng biến đổi của globulin miễn dịch chứa ba vùng siêu biến, được gọi là vùng xác định tính bổ

trợ 1 (CDR1), vùng xác định tính hỗ trợ 2 (CDR2), và vùng xác định tính hỗ trợ 3 (CDR3). Các vùng này tạo ra vị trí liên kết với kháng nguyên của kháng thể. Các CDR được đưa sâu vào các vùng khung ít biến đổi hơn (FR1-FR4). Trật tự của các vùng con trong vùng biến đổi này là như sau: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Nhiều trình tự khác nhau của các vùng biến đổi của globulin miễn dịch là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, xem tài liệu: Kabat *et al.*, SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD, 1991.

Các CDR có thể nằm trong trình tự vùng VH theo cách sau. CDR1 bắt đầu ở gần gốc 31 của vùng VH trưởng thành và thường có chiều dài 5 đến 7 axit amin, và nó hầu như luôn luôn nằm sau Cys-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx (SEQ ID NO: 20) (trong đó “Xxx” là axit amin bất kỳ). Gốc sau CDR1 của chuỗi nặng hầu như luôn luôn là tryptophan, thường là Trp-Val, Trp-Ile, hoặc Trp-Ala. Mười bốn axit amin hầu như luôn luôn ở giữa gốc cuối cùng trong CDR1 và đầu tiên ở CDR2, và CDR2 thường chứa 16 đến 19 axit amin. CDR2 có thể nằm ngay sau Leu-Glu-Trp-Ile-Gly (SEQ ID NO: 21) và có thể nằm ngay trước Lys/Arg-Leu/Ile/Val/Phe/Thr/Ala-Thr/Ser/Ile/Ala. Các axit amin khác có thể nằm trước hoặc sau CDR2. Ba mươi hai axit amin hầu như luôn luôn ở giữa gốc cuối cùng ở CDR2 và đầu tiên trong CDR3, và CDR3 có thể có chiều dài 3 gốc đến 25 gốc. Cys-Xxx-Xxx hầu như luôn luôn nằm ngay trước CDR3, và Trp-Gly-Xxx-Gly (SEQ ID NO: 22) hầu như luôn luôn nằm sau CDR3.

Các CDR của chuỗi nhẹ có thể nằm trong vùng VL theo cách sau. CDR1 bắt đầu ở gần gốc 24 của kháng thể trưởng thành và thường có chiều dài 10 gốc đến 17 gốc. Nó hầu như luôn luôn nằm sau Cys. Hầu như luôn luôn có 15 axit amin giữa gốc cuối cùng của CDR1 và gốc đầu tiên của CDR2, và CDR2 hầu như luôn luôn có chiều dài 7 gốc. CDR2 thường nằm sau Ile-Tyr, Val-Tyr, Ile-Lys, hoặc Ile-Phe. Hầu như luôn luôn có 32 gốc giữa CDR2 và CDR3, và CDR3 thường có chiều dài là 7 đến 10 axit amin. CDR3 hầu như luôn luôn nằm sau Cys và thường nằm trước Phe-Gly-Xxx-Gly (SEQ ID NO: 23).

“**Nhóm liên kết**”, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là peptit mà liên kết hai polypeptit. Nhóm liên kết có thể có chiều dài 1 đến 80 axit amin. Theo một

số phương án, nhóm liên kết có thể dài 2 đến 40 axit amin, 3 đến 30 axit amin, hoặc 3 đến 20 axit amin. Theo một số phương án, nhóm liên kết có thể là peptit không dài hơn 14 axit amin, 13 axit amin, 12 axit amin, 11 axit amin, 10 axit amin, 9 axit amin, 8 axit amin, 7 axit amin, 6 axit amin, hoặc 5 axit amin. Theo các phương án khác, nhóm liên kết có thể dài từ 5 đến 25 axit amin, 5 đến 15 axit amin, 10 đến 20 axit amin, hoặc 20 đến 30 axit amin. Theo các phương án khác, nhóm liên kết có thể dài 2 axit amin, 3 axit amin, 4 axit amin, 5 axit amin, 6 axit amin, 7 axit amin, 8 axit amin, 9 axit amin, 10 axit amin, 11 axit amin, 12 axit amin, 13 axit amin, 14 axit amin, 15 axit amin, 16 axit amin, 17 axit amin, 18 axit amin, 19 axit amin, 20 axit amin, 21 axit amin, 22 axit amin, 23 axit amin, 24 axit amin, 25 axit amin, 26 axit amin, 27 axit amin, 28 axit amin, 29 axit amin, hoặc 30 axit amin. Trong nhiều trường hợp, các nhóm liên kết thiếu gốc xystein tự do (tức là và do đó là không liên quan đến liên kết disulfua) và cũng không chứa vị trí glycosyl hóa ở N (tức là Asn – Xxx – Ser/Thr, trong đó X có thể là axit amin bất kỳ ngoại trừ prolin).

“**Thể peptit**”, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là một hoặc nhiều peptit có hoạt tính sinh học được dung hợp với vùng Fc. Tài liệu của Shimamoto và các đồng tác giả (2012), mAbs 4(5): 586-591, có các phần giải thích cấu trúc của thể peptit và cách tạo ra nó được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

“**Peptit**”, như được định nghĩa trong bản mô tả này, là polypeptit mà chứa trình tự axit amin ngắn, mà có thể được glycosyl hóa hoặc có thể không được glycosyl hóa và/hoặc chứa các axit amin được cải biến. Peptit có thể dài từ 2 đến 75 axit amin. Theo một số phương án, peptit dài từ 3 đến 60 axit amin, 3 đến 50 axit amin, 3 đến 40 axit amin, 3 đến 30 axit amin, hoặc 3 đến 20 axit amin. Theo các phương án khác, peptit có thể dài từ 5 đến 25 axit amin, 5 đến 15 axit amin, 10 đến 20 axit amin, hoặc 20 đến 30 axit amin. Theo các phương án khác, peptit có thể dài 2 axit amin, 3 axit amin, 4 axit amin, 5 axit amin, 6 axit amin, 7 axit amin, 8 axit amin, 9 axit amin, 10 axit amin, 11 axit amin, 12 axit amin, 13 axit amin, 14 axit amin, 15 axit amin, 16 axit amin, 17 axit amin, 18 axit amin, 19 axit amin, 20 axit amin, 21 axit amin, 22 axit amin, 23 axit amin, 24 axit amin, 25 axit amin, 26 axit amin, 27 axit amin, 28 axit amin, 29 axit amin, hoặc 30 axit amin.

“Lượng hữu hiệu để điều trị bệnh” được dùng để điều trị bệnh là lượng mà có thể làm giảm mức độ trầm trọng của bệnh, làm giảm mức độ trầm trọng của một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến bệnh hoặc phương pháp điều trị nó, hoặc làm trì hoãn sự khởi phát của các triệu chứng trầm trọng hơn hoặc một bệnh trầm trọng hơn mà có thể xảy ra với một số tần suất nhất định sau tình trạng bệnh lý đã được điều trị này.

“Việc điều trị” bệnh bất kỳ được nêu trong bản mô tả này bao hàm việc làm giảm ít nhất một triệu chứng của bệnh, sự giảm về mức độ trầm trọng của bệnh, hoặc việc làm trì hoãn hoặc phòng ngừa sự tiến triển của bệnh thành các triệu chứng trầm trọng hơn mà có thể, trong một số trường hợp, liên quan đến bệnh này hoặc dẫn đến ít nhất một bệnh khác. Việc điều trị không cần phải có nghĩa là bệnh được chữa khỏi hoàn toàn. Một chất trị liệu hữu ích chỉ cần làm giảm mức độ trầm trọng của bệnh, làm giảm mức độ trầm trọng của một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến bệnh hoặc phương pháp điều trị bệnh của nó, hoặc làm trì hoãn sự khởi phát của các triệu chứng trầm trọng hơn hoặc một bệnh trầm trọng hơn mà có thể xảy ra với một số tần suất nhất định sau tình trạng bệnh lý đã được điều trị này. Ví dụ, nếu bệnh là bệnh viêm ruột, thì chất trị liệu dùng làm phương pháp điều trị bệnh có thể làm giảm số vị trí viêm riêng biệt trong ruột hoặc toàn bộ phạm vi ruột bị ảnh hưởng. Chất này có thể làm giảm tình trạng đau và/hoặc sưng, làm giảm các triệu chứng như tiêu chảy, táo bón, hoặc nôn, và/hoặc phòng ngừa tình trạng thủng ruột. Có thể đánh giá tình trạng bệnh lý của bệnh nhân bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn như chụp x quang được thực hiện sau khi thực hiện thủ thuật bari hoặc chụp ruột non cản quang, nội soi, nội soi đại tràng, và/hoặc sinh thiết. Các quy trình thích hợp thay đổi theo triệu chứng và tình trạng bệnh lý của bệnh nhân. Tương tự, nếu bệnh được điều trị là luput ban đỏ toàn thân (systemic lupus erythematosus - SLE), thì có thể đánh giá hoạt động của bệnh bằng cách sử dụng chỉ số SLEDAI dùng để tính điểm, như được giải thích dưới đây.

Các protein đặc hiệu kép mà liên kết với BAFF và B7RP1

Được bộc lộ trong bản mô tả này là các protein đặc hiệu kép mà liên kết với B7RP1 và BAFF và/hoặc có thể ức chế sự tăng sinh tế bào T do B7RP1 gây ra và

quá trình tăng sinh tế bào B do BAFF gây ra *in vitro*. Protein BAFF và protein B7RP1 mà protein đặc hiệu kép như được bộc lộ trong bản mô tả này liên kết với có thể là các protein của người và/hoặc có thể là các protein từ một loài khác như khỉ đuôi dài, khỉ rezut, tinh tinh, chuột, và/hoặc thỏ, trong số các đối tượng khác. Theo một số phương án, ví dụ, protein đặc hiệu kép như được bộc lộ trong bản mô tả này có thể liên kết với cả protein B7RP1 và protein BAFF cả của người (*Homo sapiens*) và cả của khỉ đuôi dài (*Macaca fascicularis*).

Theo một số phương án, các protein đặc hiệu kép này có thể là các kháng thể IgG đặc hiệu kép mà trong đó phần liên kết với B7RP1 và phần liên kết với BAFF mỗi phần về cơ bản chứa chuỗi nặng của globulin miễn dịch IgG và chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch. Vì vậy, kháng thể đặc hiệu kép này chứa hai chuỗi nặng khác nhau của globulin miễn dịch và hai chuỗi nhẹ khác nhau của globulin miễn dịch. Đồng thời, hai cặp gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch này tạo ra kháng thể IgG đặc hiệu kép hoàn chỉnh. Các kháng thể IgG đặc hiệu kép là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, và một số kiểu khác của các kháng thể đặc hiệu kép là cũng đã biết. Ví dụ, xem tài liệu: Kontermann, *Bispecific Antibodies: Developments and Current Perspectives*, pp. 1-28 trong BISPECIFIC ANTIBODIES, Kontermann, ed., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2011, có các phần mô tả các kháng thể này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Các kháng thể mà có thể liên kết với BAFF và B7RP1, bất kể kiểu nào, được dự định trong bản mô tả này. Các kháng thể IgG đặc hiệu kép có thể là kháng thể của người, được làm giống như kháng thể của người, hoặc khảm và có thể thuộc kiểu tương đương IgG1, kiểu tương đương IgG2, kiểu tương đương IgG3, hoặc kiểu tương đương IgG4. Theo một số phương án, các kháng thể IgG đặc hiệu kép có thể được tiếp hợp với các gốc khác. Các trình tự axit amin của kháng thể kháng BAFF và kháng thể kháng B7RP1 là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, xem: patent Mỹ 7,737,111 và công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ US 2011/0117093. Có các phần mô tả các kháng thể này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Theo một số phương án, các kháng thể đặc hiệu kép này có thể có “các thay đổi heterodime hóa”, như được định nghĩa trên đây, kể cả các đoạn thay thế cặp điện tích, mà tạo điều kiện thuận lợi cho việc tạo ra kháng thể IgG đặc hiệu kép dạng heterotetrame.

Theo các phương án khác, các protein đặc hiệu kép được bộc lộ trong bản mô tả này có thể là các protein dung hợp chứa kháng thể mà liên kết với B7RP1, mà chứa chuỗi nặng của globulin miễn dịch IgG và chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch, và peptit mà liên kết với BAFF. Peptit liên kết với BAFF có thể có mặt trong một hoặc nhiều bản sao, như hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, hoặc lên đến 16 bản sao. Peptit liên kết với BAFF có thể liên kết với protein BAFF từ các loài như chuột, khỉ đuôi dài, và/hoặc người, trong số nhiều loài có thể có khác. Kháng thể có thể là kháng thể IgG kháng B7RP1, tùy ý là kháng thể của người hoặc kháng thể được làm giống như kháng thể của người mà liên kết với B7RP1 của người và/hoặc B7RP1 của khỉ đuôi dài. Theo một số phương án, liên kết có thể được gắn vào đầu tận cùng C của chuỗi nặng của kháng thể IgG kháng B7RP1, sau đó là peptit liên kết với BAFF thứ nhất, một liên kết khác, và peptit liên kết với BAFF thứ hai. Peptit liên kết với BAFF thứ ba, thứ bốn, thứ năm, thứ sáu, thứ bảy, thứ tám, hoặc lên đến thứ mười sáu có thể theo hai peptit này, tùy ý nằm xen giữa các liên kết. Theo cách khác hoặc ngoài ra, một, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, hoặc tám peptit liên kết với BAFF có thể được chèn nơi khác ở kháng thể kháng B7RP1, ví dụ, ở đầu tận cùng N của chuỗi nặng của globulin miễn dịch hoặc chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch hoặc ở vùng vòng ở vùng CH2 hoặc vùng CH3. Kháng thể IgG có thể là kháng thể động vật có vú, như kháng thể của người hoặc kháng thể của chuột. Kháng thể kháng B7RP1 có thể là kháng thể IgG1, kháng thể IgG2, kháng thể IgG3, hoặc kháng thể IgG4 của người hoặc được làm giống như kháng thể của người. Ở các protein dung hợp đặc hiệu kép chứa kháng thể IgG kháng B7RP1 này, protein đặc hiệu kép có thể bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:17 hoặc SEQ ID NO:18 và chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19. Các biến thể chứa chuỗi nặng có trình tự axit amin chứa không nhiều hơn 30, 25, 20, 15, 10, 5, hoặc 3 đoạn chèn, đoạn xóa bỏ, hoặc đoạn thay thế của một axit amin so với SEQ ID NO: 17 hoặc 18 được dự định. Tương tự, các biến thể chứa chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch có trình tự axit amin chứa không nhiều hơn 20, 15, 10, 8, 7, 5, hoặc 3 đoạn chèn, đoạn xóa bỏ, hoặc đoạn thay thế của một axit amin so với SEQ ID NO:19 được dự định. Các protein đặc hiệu kép này có thể là tetrame bao gồm hai polypeptit chứa trình tự axit amin nêu

trong SEQ ID NO:17 hoặc 18 hoặc biến thể của chúng và hai chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19 hoặc biến thể của nó.

Phần peptit liên kết với BAFF của protein dung hợp đặc hiệu kép như được mô tả trên đây có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, hoặc SEQ ID NO:3. Các peptit liên kết với BAFF này được mô tả trong patent Mỹ 7,737,111, các phần liên quan của tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Theo một số phương án, có thể có một, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, mười, mười một, mười hai, mười ba, mười bốn, mười lăm, hoặc mười sáu bản sao của peptit liên kết với BAFF này có mặt ở protein đặc hiệu kép. Peptit liên kết với BAFF có thể được gắn vào đầu tận cùng carboxy của kháng thể kháng B7RP1, ví dụ, thông qua một liên kết nào đó. Ví dụ, đầu tận cùng carboxy của kháng thể IgG kháng B7RP1 có thể nằm trước một liên kết có, ví dụ, trình tự axit amin là Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:4). Các ví dụ về các liên kết thích hợp khác bao gồm Gly-Gly, Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:37), Gly-Gly-Gly-Pro (SEQ ID NO:38), Gly-Gly-Gly-Gln (SEQ ID NO:39), và Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:40), trong số nhiều loại khác. Liên kết này có thể nằm trước peptit liên kết với BAFF. Peptit liên kết với BAFF có thể nằm trước một liên kết khác chứa, ví dụ, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, hoặc SEQ ID NO:24. Cũng có thể sử dụng liên kết khác. Liên kết này có thể nằm trước một peptit liên kết với BAFF khác chứa, ví dụ, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:1.

Ở các protein dung hợp đặc hiệu kép được mô tả ngay trên đây hoặc ở các kháng thể IgG dạng heterotetrame đặc hiệu kép được mô tả trên đây, vùng VL có thể chứa CDR1, CDR2, và CDR3 lần lượt chứa các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, và trình tự nêu trong SEQ ID NO:10. CDR1, CDR2, và CDR3 của vùng VH có thể bao gồm các trình tự axit amin lần lượt nêu trong SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, và trình tự nêu trong SEQ ID NO:13. Theo một số phương án, vùng VL của kháng thể IgG có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:14 hoặc biến thể của nó, và vùng VH có thể bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:15 hoặc biến thể của nó. Các trình tự biến thể này có thể

chứa không nhiều hơn 10 đoạn xóa bỏ, đoạn chèn hoặc đoạn thay thế của một axit amin trong mỗi 100 axit amin so với trình tự tham chiếu.

Các protein chứa liên kết

Được đề xuất trong bản mô tả này là các liên kết có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:5, 6, hoặc 7 mà đem lại các tính chất vật lý thuận lợi cho protein mà chứa chúng. Như được thể hiện ở ví dụ 1 sau, cách sử dụng hai liên kết cụ thể, tức là liên kết có các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:6 và trình tự nêu trong SEQ ID NO:7, đã có tác dụng tích cực đối với các tính chất như sự biểu hiện, tính ổn định, và độ nhớt của phân tử đặc hiệu kép. Vì vậy, một loạt protein chứa các liên kết này có thể có các tính chất thuận lợi này so với các protein tương tự chứa các liên kết khác.

Công dụng trị liệu của protein đặc hiệu kép

Các protein đặc hiệu kép liên kết với BAFF và B7RP1 được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được sử dụng làm chất trị liệu đối với một loạt chỉ định, cụ thể là các tình trạng bệnh lý được thúc đẩy bởi các tự kháng thể và/hoặc các tình trạng bệnh lý do cả tế bào T và tế bào B gây ra. Các tình trạng bệnh lý này bao gồm, ví dụ, SLE, luput, bệnh viêm thận, bệnh viêm mạch dương tính với ANCA, bệnh viêm đa khớp dạng thấp (RA), bệnh viêm da cơ, bệnh viêm đa cơ, các bệnh dạ dày-ruột như bệnh Crohn, bệnh viêm loét kết tràng, và bệnh celiac, các tình trạng bệnh lý về da như bệnh pemphigut, bệnh pemphigoid, và bệnh luput ban đỏ da bán cấp (subacute cutaneous lupus erythematosus - SCLE), các bệnh về hệ thần kinh như bệnh xơ cứng rải rác và bệnh đa dây thần kinh do bệnh viêm hủy myelin mạn tính (CIDP), các bệnh thần kinh-cơ như bệnh nhược cơ năng, các bệnh liên quan đến thận như hội chứng Goodpasture và bệnh viêm thận tiểu cầu, các tình trạng bệnh lý huyết học như bệnh thiếu máu tan huyết tự miễn (autoimmune hemolytic anemia - AIHA), bệnh ban xuất huyết giảm tiểu cầu vô căn (idiopathic thrombocytopenic purpura-ITP), và bệnh giảm bạch cầu trung tính tự miễn, các tình trạng bệnh lý về gan như bệnh viêm gan mạn tính hoạt động và xơ gan mật nguyên phát, hội chứng Sjogren, bệnh xơ cứng toàn thân, và các tình trạng bệnh lý nội tiết kể cả bệnh viêm

tuyến giáp Hashimoto, bệnh Graves, bệnh Addison, và tình trạng suy nhiều tuyến nội tiết tự miễn (thông thường bao gồm cả bệnh đái tháo đường, bệnh giảm năng tuyến giáp, bệnh Addison, và suy tuyến sinh dục). Có thể cho bệnh nhân mắc tình trạng bất kỳ trong số các tình trạng bệnh lý này dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của protein đặc hiệu kép như được bộc lộ trong bản mô tả này để điều trị tình trạng bệnh lý này.

Theo một phương án, protein đặc hiệu kép mà có thể ức chế sự tăng sinh tế bào B do BAFF gây ra và quá trình tăng sinh tế bào T do B7RP1 gây ra có thể được sử dụng để điều trị bệnh nhân mắc SLE. SLE là bệnh tự miễn có bệnh nguyên học chưa biết được đánh dấu bằng tính tự phản ứng với kháng nguyên tự thân ở nhân. Các biểu hiện lâm sàng của nó thì đa dạng đến nỗi có thể nghi vấn là liệu đây có thực sự là một bệnh hay nhóm gồm các tình trạng bệnh lý có liên quan. Kotzin (1996) Systemic lupus erythematosus. *Cell* **85**: 303-306; Rahman and Isenberg (2008), Systemic lupus erythematosus. *N. Engl. J. Med.* **358**: 929-939. Các triệu chứng có thể bao gồm các loại sau đây: các triệu chứng thể tạng như tình trạng khó chịu, mệt mỏi, sốt, chứng biếng ăn, và sút cân; các triệu chứng đa dạng của da kể cả chứng phát ban mặt nhất thời, cấp tính ở người trưởng thành, bệnh bong nước, và phát ban làm biến dạng và mạn tính ở đầu và cổ; viêm khớp; đau cơ và/hoặc yếu sức; các triệu chứng tim mạch như tình trạng dày van hai lá, tình trạng sùi, tình trạng hở, chứng hẹp, chứng viêm màng ngoài tim, và bệnh tim do thiếu máu cục bộ, một số bệnh trong số các bệnh này có thể đạt đến đỉnh điểm là đột quy, bệnh nghẽn mạch, suy tim, bệnh viêm màng trong tim do lây nhiễm, hoặc suy van tim; bệnh viêm thận, bệnh này là nguyên nhân chính của tình trạng bệnh ở SLE; các triệu chứng thần kinh kể cả loạn chức năng nhận thức, trầm cảm, rối loạn tâm thần, hôn mê, rối loạn động kinh, bệnh đau nửa đầu, và các hội chứng đau đầu khác, bệnh viêm màng não vô khuẩn, bệnh múa giật, đột quy, và các bệnh thần kinh sọ; các triệu chứng huyết học kể cả chứng giảm bạch cầu, chứng giảm tiểu cầu, bệnh viêm thanh mạc, bệnh thiếu máu, các bất thường về đông máu, bệnh to lách, và bệnh hạch bạch huyết; và các bất thường khác nhau ở dạ dày-ruột. Tài liệu đã dẫn; Vratsanos *et al.*, “Systemic Lupus Erythematosus”, Chapter 39 trong Samter’s Immunological Diseases, 6th Edition, Austen *et al.*, eds., Lippincott Williams & Wilkins,

Philadelphia, PA, 2001. Mức độ trầm trọng của các triệu chứng thay đổi nhiều, và tiến trình của bệnh cũng vậy. SLE có thể gây chết.

Bệnh nhân SLE có thể được điều trị bệnh bằng protein đặc hiệu kép mà ức chế BAFF và B7RP1 trước khi, sau khi, hoặc đồng thời với phương pháp điều trị bệnh bằng cách sử dụng liệu pháp hiện có dùng cho SLE. Các liệu pháp hiện có này dùng cho SLE bao gồm các corticosteroid như prednison, prednisolon, và methylprednisolon, thuốc trị bệnh sốt rét như hydroxycloquin, quinacrin, và cloquin, axit retinoic, aspirin và các thuốc chống viêm không steroid (nonsteroidal anti-inflammatory drug - NSAID) khác, cyclophosphamid, dehydroepiandrosteron, mycophenolat mofetil, azathioprin, chlorambucil, metotrexat, tacrolimus, đapsone, talidomid, leflunomid, cyclosporin, belimumab, các kháng thể kháng CD20 như rituximab, và các protein dung hợp như abatacept.

Hoạt động của bệnh của các bệnh nhân SLE có thể được xếp hạng bằng cách sử dụng công cụ như Chỉ số Hoạt động của bệnh của bệnh Luput ban đỏ toàn thân (Systemic Lupus Erythematosis Disease Activity Index - SLEDAI), công cụ này đem lại điểm số về hoạt động của bệnh mà xem xét đến các triệu chứng sau đây, các triệu chứng này được lấy trọng số theo mức độ trầm trọng: cơn động kinh, rối loạn tâm thần, hội chứng về tổ chức não, nhiễu loạn thị lực, rối loạn dây thần kinh sọ, bệnh đau đầu luput, bệnh viêm mạch, bệnh viêm khớp, bệnh viêm cơ, chất thải hình trụ trong nước tiểu, bệnh huyết-niệu, bệnh protein-niệu, bệnh mù-niệu, bệnh phát ban mới, chứng rụng tóc, loét niêm mạc, bệnh viêm màng phổi, chứng viêm màng ngoài tim, nồng độ bổ thể thấp, mức liên kết ADN tăng, sốt, chứng giảm tiểu cầu, và chứng giảm bạch cầu. Bombardier *et al.* (1992), *Arthr. & Rheum.* 35(6): 630-640, các phần liên quan của tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Các phương pháp điều trị bệnh được bộc lộ trong bản mô tả này có thể là hữu ích trong việc làm giảm hoặc loại bỏ các triệu chứng của SLE như được đo bằng SLEDAI. Các phương pháp điều trị bệnh được bộc lộ trong bản mô tả này có thể cải thiện điểm số SLEDAI của bệnh nhân so với trị số đường chuẩn của cùng một bệnh nhân trước khi khởi đầu sự điều trị bệnh bằng protein đặc hiệu kép như được bộc lộ trong bản mô tả này.

Một phương pháp khác dùng để đánh giá hoạt động của bệnh ở SLE là chỉ số của Nhóm Đánh giá Luput Quần đảo Anh (British Isles Lupus Assessment Group - BILAG), chỉ số này là hệ thống đánh giá hoạt động của bệnh đối với bệnh nhân SLE trên cơ sở nguyên tắc là ý định điều trị của bác sĩ. Tài liệu của Stoll và các đồng tác giả (1996), *Ann. Rheum Dis.* 55: 756-760; tài liệu của Hay và các đồng tác giả (1993), *Q. J. Med.* 86: 447-458. Có các phần mô tả BILAG được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Điểm số BILAG được gán bằng cách đưa ra các điểm số hoạt động của bệnh theo số hoặc theo thứ tự chữ cái tách biệt trong mỗi hệ thống trong số tám hệ thống trên cơ sở cơ quan, tổng quát (như sốt và mệt mỏi), niêm mạc-da (như chứng phát ban và chứng rụng tóc, trong số nhiều triệu chứng khác), thần kinh (như cơn động kinh, bệnh đau nửa đầu, và rối loạn tâm thần, trong số nhiều triệu chứng khác), cơ-xương (như bệnh viêm khớp), tim-hô hấp (như bệnh suy tim và chức năng phổi giảm), bệnh viêm mạch và chứng huyết khối, bệnh thận (như bệnh viêm thận), và bệnh huyết học. Tài liệu đã dẫn. Các phương pháp điều trị bệnh được bộc lộ trong bản mô tả này có thể là hữu ích trong việc làm giảm hoặc loại bỏ các triệu chứng của SLE như đo được bằng chỉ số BILAG hoặc trong việc làm giảm điểm số BILAG của bệnh nhân so với trị số đường chuẩn trước khi bắt đầu điều trị bệnh bằng protein đặc hiệu kép như được bộc lộ trong bản mô tả này.

Protein đặc hiệu kép như được bộc lộ trong bản mô tả này, mà ức chế sự tăng sinh do BAFF gây ra của tế bào B và khả năng tăng sinh do B7RP1 gây ra của các tế bào T, cũng có thể được sử dụng để điều trị bệnh viêm đa khớp dạng thấp (RA). RA là bệnh mạn tính có các triệu chứng toàn thân, cũng như các triệu chứng liên quan cụ thể đến khớp. Các triệu chứng thường bao gồm sự viêm màng hoạt dịch, dẫn đến tình trạng khớp đau và khớp sưng, và các bất thường phát hiện được trong phòng thí nghiệm khác nhau như các lượng lớn hơn bình thường của yếu tố dạng thấp, kháng thể kháng protein được cải biến bằng xitruilin (chất kháng CCP), và protein có tính phản ứng C (C-reactive protein - CRP) và tốc độ lắng hồng cầu (erythrocyte sedimentation rate - ESR) tăng. Các triệu chứng ít phổ biến hơn bao gồm các triệu chứng ngoài khớp khác nhau liên quan đến, ví dụ, gân, dây chằng, mạch máu, tim và phổi. Thông thường, có thể đo hoạt động của bệnh bằng cách sử dụng một loạt chỉ số. Ví dụ, xem tài liệu: Anderson *et al.* (2012), *Arthritis care &*

Res. 64 (5): 640-647, có các phần bàn luận về các chỉ số này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Các yếu tố nằm trong chỉ số tính điểm này bao gồm số lượng khớp mềm, số lượng khớp sưng, các chỉ số đánh giá chức năng, và các phát hiện trong phòng thí nghiệm khác nhau như CRP, ESR, v.v..

Theo một số phương án, bệnh nhân mắc RA có thể được điều trị bệnh bằng protein đặc hiệu kép mà ức chế sự tăng sinh tế bào B do BAFF gây ra và quá trình tăng sinh tế bào T do B7RP1 gây ra trước khi, sau khi, hoặc đồng thời với việc điều trị bệnh bằng thuốc hiện đang được sử dụng đối với RA. Các chất trị liệu hiện đang được sử dụng đối với bệnh viêm đa khớp dạng thấp (RA) bao gồm thuốc chống viêm không steroid (NSAID) (như chất ức chế aspirin và chất ức chế xyclo-oxygenaza-2 (COX-2)), các thuốc chống viêm làm thuyên giảm bệnh (disease-modifying anti-inflammatory drug - DMARD, như metotrexat, leflunomit, và sulfasalazin), các loại thuốc trị bệnh sốt rét (như hydroxycloquin), xyclophosphamit, D-penixilamin, azathioprin, muối của vàng, các chất ức chế yếu tố hoại tử khối u (như etanercept, infliximab, adalimumab, golimumab, và certolizumab pegol), chất ức chế CD20 như rituximab, các chất đối kháng IL-1 như anakinra, các chất ức chế IL-6 như tocilizumab, các chất ức chế của họ kinaza Janus (Janus kinase - JAK, như tofacitinib), abatacept, và các corticosteroid, trong số các chất khác.

Lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của protein đặc hiệu kép như được bộc lộ trong bản mô tả này, mà ức chế sự tăng sinh do BAFF gây ra của tế bào B và khả năng tăng sinh do B7RP1 gây ra của các tế bào T, cũng có thể được sử dụng để điều trị bệnh viêm ruột, như bệnh Crohn hoặc bệnh viêm loét kết tràng. Bệnh Crohn liên quan đến chứng viêm bất thường của phần bất kỳ của ống tiêu hóa từ miệng đến hậu môn, mặc dù ở hầu hết các bệnh nhân, chứng viêm bất thường bị giới hạn ở vùng hồi-kết tràng, vùng ruột non và vùng kết tràng-trực tràng-hậu môn. Thông thường, bệnh viêm này là không liên tục. Các triệu chứng phổ biến bao gồm đau bụng, chứng biếng ăn, sút cân, sốt, tiêu chảy, cảm giác đầy bụng và/hoặc cảm giác mềm ở phần tư dưới bên phải của bụng, táo bón, nôn, và sự khó chịu quanh hậu môn và rò quanh hậu môn. Các triệu chứng có thể có khác bao gồm viêm khớp ngoại vi, chứng chậm lớn, bệnh viêm thượng củng mạc, bệnh viêm lỗ miệng, ban đỏ nốt, hoại thư

da sinh mụn, bệnh sỏi thận, tình trạng loãng nước tiểu do suy nhược và tình trạng kiềm hóa, tình trạng kém hấp thu, và bệnh sỏi mật, trong số các bệnh khác. Ví dụ, xem tài liệu: Strober *et al.*, *Medical Immunology*, 10th Edition, Section III, Ch. 35 (2001); *Merck Manual of Diagnosis and Therapy*, 17th Edition, Section 3, Ch. 31 (1999). Các đại thực bào phân lập được từ các bệnh nhân mắc bệnh Crohn tạo ra lượng gia tăng của IL-12, IFN γ , TNF α , và các xytokin gây viêm khác.

Bệnh viêm loét kết tràng, mặc dù đôi khi khó phân biệt bệnh này với bệnh Crohn, khác với bệnh Crohn theo một vài khía cạnh. Thứ nhất, bệnh này nói chung giới hạn ở kết tràng trong khi bệnh Crohn có thể xảy ra khắp ống tiêu hóa. Thứ hai, bệnh viêm kết tràng gây loét chủ yếu liên quan đến chứng viêm chỉ trong các lớp bề mặt của ruột, không giống bệnh Crohn mà trong đó viêm có thể thâm nhập tất cả các con đường qua thành của ruột hoặc các vị trí khác trong ống tiêu hóa. Cuối cùng, bệnh viêm kết tràng gây loét thông thường liên quan đến vùng viêm liên tục, mà không phải là vị trí viêm không liên tục điển hình của bệnh Crohn. Giống như bệnh Crohn, bệnh viêm kết tràng gây loét được tìm thấy chủ yếu trong khu vực đô thị. Ngoài ra, các yếu tố di truyền chắc chắn đóng một vai trò nhất định trong bệnh viêm kết tràng gây loét vì có tập hợp các ca có tính di truyền. Thường quan sát thấy các tự kháng thể ở các bệnh nhân bệnh viêm kết tràng gây loét hơn so với các bệnh nhân mắc bệnh Crohn. Các tự kháng thể thường được hướng đến các thành phần tế bào biểu mô kết tràng. Trong số các loại phổ biến nhất là các kháng thể bào tương kháng bạch cầu trung tính có tính đặc hiệu với catalaza, α -enolaza, và lactoferin. Trong một số trường hợp, các kháng thể như vậy phản ứng chéo với các vi sinh vật trong kết tràng.

Trong các thử nghiệm lâm sàng, hoạt động của bệnh Crohn thường được tính điểm bằng cách sử dụng chỉ số hoạt động của bệnh Crohn (Crohn's Disease Activity Index - CDAI). CDAI đem lại điểm số hoạt động của bệnh trên cơ sở tám yếu tố bao gồm (1) số lần đi ngoài phân lỏng hoặc mềm trong mỗi ngày, (2) xếp hạng bệnh nhân về mức đau bụng trong mỗi ngày, (3) xếp hạng bệnh nhân về sức khỏe tổng quát, (4) báo cáo của bệnh nhân về các triệu chứng khác bao gồm bệnh viêm khớp, bệnh viêm móng mắt, bệnh viêm màng mạch nho, ban đỏ nốt, hoại thư da sinh mụn, bệnh viêm lỗ miệng, rò hậu môn, lỗ rò, hoặc áp xe, lỗ rò khác, hoặc sốt,

(5) báo cáo của bệnh nhân về việc dùng lomotil hoặc các chế phẩm có thuốc phen khác dùng cho bệnh tiêu chảy, (6) khối u vùng bụng, (7) tỷ lệ thể tích huyết cầu, và (8) thể trọng. Ví dụ, xem tài liệu: Best *et al.* (1976), *Gastroenterol.* 70: 439-444, có các phân liên quan được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Các triệu chứng của bệnh viêm kết tràng gây loét có thể thay đổi. Chúng có thể bao gồm sự tiêu chảy, sự đi ngoài buốt mót, sự đau quặn vùng bụng, máu và dịch nhầy trong phân, sốt, và sự chảy máu trực tràng. Sự phình kết tràng gây độc, một tình trạng bệnh lý về tiềm năng đe dọa mạng sống mà trong đó kết tràng bị giãn ra hơn 6 xentimet và có thể mất trương lực cơ của nó và/hoặc thủng, cũng có thể xảy ra. Các triệu chứng khác mà có thể đi kèm với bệnh viêm kết tràng gây loét bao gồm viêm khớp ngoại vi, bệnh viêm cột sống dính khớp, bệnh viêm khớp xương cùng-xương chậu, bệnh viêm màng mạch nhỏ trước, chứng ban đỏ nốt, chứng hoại thư da sinh mủ, bệnh viêm thượng củng mạc, bệnh viêm gan tự miễn, bệnh viêm đường mật xơ hóa nguyên phát, bệnh xơ gan, và tình trạng chậm lớn và chậm phát triển ở trẻ em.

Theo một số phương án, bệnh nhân mắc bệnh viêm ruột (inflammatory bowel disease - IBD), như bệnh Crohn hoặc bệnh viêm loét kết tràng, có thể được điều trị bệnh bằng protein đặc hiệu kép mà liên kết với BAFF và B7RP1 trước khi, sau khi, hoặc đồng thời với việc điều trị bệnh bằng liệu pháp hiện có đối với IBD. Các chất trị liệu hiện có đối với IBD bao gồm, ví dụ, sulfasalazin, axit 5-aminosalixylic và các dẫn xuất của chúng (như olsalazin, balsalazide, và mesalamin), các kháng thể kháng TNF (kể cả infliximab, adalimumab, golimumab, và certolizumab pegol), các corticosteroid để dùng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa (kể cả prednison, methylprednison, budesonit, hoặc hydrocortison), hormon vỏ thượng thận, các chất kháng sinh (kể cả metronidazol, ciprofloxacin, hoặc rifaximin), azathioprin, 6-mercaptopurin, metotrexat, cyclosporin, tacrolimus, và talidomit.

Các axit nucleic mã hóa protein đặc hiệu kép

Được đề xuất trong bản mô tả này là các axit nucleic mã hóa protein đặc hiệu kép mà có thể ức chế sự tăng sinh tế bào T do B7RP1 gây ra và quá trình tăng sinh

tế bào B do BAFF gây ra. Ví dụ, SEQ ID NO:52 mã hóa vùng VL có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:14, và trình tự nêu trong SEQ ID NO:53 mã hóa vùng VH có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:15. Tương tự, các trình tự nêu trong SEQ ID NO:55 và 56 lần lượt mã hóa các trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:17 và 18, đây là polypeptit chứa chuỗi nặng của kháng thể kháng B7RP1 được dung hợp với hai peptit liên kết với BAFF. Trình tự nêu trong SEQ ID NO:57 mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng B7RP1, phần này có thể là một phần của kháng thể IgG đặc hiệu kép dạng hetero-tetrame hoặc protein dung hợp đặc hiệu kép, như được mô tả trên đây. Trình tự axit nucleic bất kỳ mã hóa trình tự axit amin bất kỳ được đề xuất trong bản mô tả này được dự định. Tương tự, các biến thể của trình tự nucleotit kể cả các đột biến câm so với các trình tự được bộc lộ trong bản mô tả này hoặc mã hóa các biến thể của trình tự axit amin được mô tả trên đây cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Cụ thể hơn, các trình tự nucleotit mã hóa các trình tự axit amin mà thay đổi không nhiều hơn 10 đoạn chèn, đoạn xóa bỏ, hoặc đoạn thay thế của một axit amin trong mỗi 100 axit amin từ các trình tự axit amin được bộc lộ trong bản mô tả này được dự định.

Trình tự axit nucleic mã hóa các protein đặc hiệu kép được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được xác định bởi chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này trên cơ sở các trình tự axit amin được đề xuất trong bản mô tả này và kiến thức trong lĩnh vực kỹ thuật này. Bên cạnh các phương pháp có tính truyền thống hơn của việc sản xuất các đoạn ADN được tách dòng mã hóa một trình tự axit amin cụ thể, các công ty như DNA 2.0 (Menlo Park, CA, Mỹ) và BlueHeron (Bothell, WA, Mỹ), trong số các công ty khác, hiện thường sản xuất các ADN theo kích thước gen được tổng hợp bằng cách hóa học có trình tự mong muốn bất kỳ theo trật tự, vì vậy mà tinh giản quy trình sản xuất các ADN như vậy. Công năng của codon có thể được điều chỉnh để tối ưu hóa mức biểu hiện trong hệ thống lựa chọn.

Phương pháp tạo protein đặc hiệu kép mà liên kết với BAFF và B7RP1

Các axit nucleic mã hóa protein đặc hiệu kép được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được chèn vào các vật truyền thích hợp đối với tế bào chủ mà trong đó axit nucleic sẽ được biểu hiện. Các axit nucleic này có thể được đưa vào các tế bào

chủ với phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các tế bào chủ mà có thể được sử dụng bao gồm vi khuẩn, kể cả *Escherichia coli*, nấm men, kể cả *Saccharomyces cerevisiae* hoặc *Pichia pastoris*, các tế bào côn trùng kể cả tế bào của *Spodoptera frugiperda*, các tế bào thực vật, và tế bào động vật có vú, kể cả tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (Chinese hamster ovary - CHO), tế bào thận chuột đồng con (baby hamster kidney - BHK), tế bào thận khỉ, tế bào HeLa, tế bào canxinom của tế bào gan của người, và tế bào 293, trong số nhiều tế bào khác. Các tế bào chủ này có thể được nuôi cấy trong các điều kiện sao cho các axit nucleic đã được đưa vào sẽ được biểu hiện, và protein đặc hiệu kép có thể được thu hồi từ dịch nổi trên bề mặt của mẻ nuôi cấy hoặc khối tế bào.

Nhìn chung, quy trình dùng để đưa các axit nucleic vào các tế bào chủ có thể phụ thuộc vào tế bào chủ mà các axit nucleic được đưa vào. Các phương pháp đưa các axit nucleic vào vi khuẩn là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, phương pháp xung điện hoặc biến nạp bằng canxi clorua thường được sử dụng. Các phương pháp dùng để đưa các axit nucleic vào nấm men là cũng đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm, ví dụ, các phương pháp biến nạp sử dụng lithi axetat và polyetylen glycol. Các phương pháp đưa các polynucleotit khác nguồn gốc vào tế bào động vật có vú là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phương pháp chuyển nhiễm nhờ dextran, kết tủa canxi phosphat, phương pháp chuyển nhiễm nhờ polybren, dung hợp thể nguyên sinh, xung điện, bao nang (các) polynucleotit trong liposom, và phương pháp nạp tế bào trực tiếp ADN vào nhân.

Các vật truyền biểu hiện dùng trong tế bào bất kỳ trong số các tế bào chủ này có thể chứa các trình tự cần thiết đối với quá trình sao chép ADN, quá trình lựa chọn các tế bào chủ chứa vật truyền này, và quá trình biểu hiện các trình tự nucleotit ngoại sinh. Các trình tự này thường có thể bao gồm một hoặc nhiều trình tự trong số các trình tự nucleotit sau: gen khởi đầu, một hoặc nhiều trình tự gen tăng cường, điểm khởi đầu sao chép, trình tự kết thúc quá trình phiên mã, trình tự vùng nội hoàn chỉnh chứa vị trí tách intron cho và nhận, trình tự mã hóa trình tự dẫn đầu dùng để tiết polypeptit, vị trí liên kết với ribosom, trình tự polyadenyl hóa, vùng đa liên kết dùng để chèn axit nucleic mã hóa polypeptit cần được biểu hiện, và yếu tố

gen đánh dấu lựa chọn. Nhiều vật truyền biểu hiện khác nhau thích hợp cho quá trình biểu hiện trong các tế bào chủ khác nhau là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và có sẵn trên thị trường.

Dược phẩm, liều lượng, và phương pháp dùng thuốc

Sáng chế đề xuất dược phẩm chứa protein đặc hiệu kép được bộc lộ trong bản mô tả này. Dược phẩm này có thể chứa lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của protein đặc hiệu kép với một hoặc nhiều thành phần bổ sung như chất mang, tá dược, hoặc chất pha loãng chấp nhận được về mặt sinh lý. Các thành phần bổ sung này có thể bao gồm dung dịch đệm, hydratcacbon, polyol, axit amin, chất tạo chelat, chất làm ổn định, và/hoặc chất bảo quản, trong số nhiều chất có thể có. Nhiều thành phần bổ sung này được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18th Edition, (A.R. Gennaro, ed.), 1990, Mack Publishing Company, có các phần liên quan được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Liều lượng của các protein đặc hiệu kép được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được điều chỉnh để đạt được các tác dụng mong muốn. Trong nhiều trường hợp, đòi hỏi phải dùng liều lặp lại vì tính chất mạn tính của bệnh đang được điều trị. Ví dụ, protein đặc hiệu kép như được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được cho dùng mỗi tuần hai lần, mỗi tuần một lần, hai, ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, hoặc mười tuần một lần, hoặc hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu tháng một lần. Lượng protein đặc hiệu kép được cho dùng mỗi ngày có thể nằm trong khoảng từ 0,0036mg đến 700mg. Theo cách khác, liều lượng này có thể được hiệu chỉnh theo bề mặt da được ước tính của bệnh nhân, và mỗi liều lượng có thể nằm trong khoảng từ 0,002 μ g/m² đến 350mg/m². Theo một phương án thay thế khác, liều lượng có thể được hiệu chỉnh theo thể trọng của bệnh nhân, và mỗi liều lượng có thể nằm trong khoảng từ 0,000051mg/kg đến 10,0mg/kg.

Protein đặc hiệu kép, hoặc các dược phẩm chứa các protein này, có thể được cho dùng theo phương pháp khả thi bất kỳ. Các liệu pháp dùng mà bao gồm protein thường qua đường ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, bằng cách tiêm, vì cách dùng qua đường miệng, khi không có một số hoàn cảnh hoặc chế phẩm đặc biệt, thường dẫn đến sự thủy phân protein trong môi trường axit của dạ dày. Việc tiêm dưới da, trong

cơ, tĩnh mạch, trong động mạch, trong thương tổn, và tiêm liều cao vào màng bụng là việc dùng thuốc có thể có. Cũng có thể cho dùng các protein đặc hiệu kép bằng cách tiêm truyền, ví dụ, tiêm truyền tĩnh mạch hoặc dưới da. Cũng có thể dùng khu trú, đặc biệt là đối với các bệnh liên quan đến da. Theo cách khác, các protein đặc hiệu kép có thể được cho dùng nhờ sự tiếp xúc với màng nhầy, ví dụ, bằng cách dùng trong mũi, dưới lưỡi, qua đường âm đạo, hoặc qua đường trực tràng hoặc cho dùng ở dạng thuốc xông-xịt. Theo cách khác, có thể cho dùng các dược phẩm thích hợp nhất định chứa protein đặc hiệu kép qua đường miệng.

Sáng chế đã được mô tả theo các thuật ngữ chung trên đây, các ví dụ dưới đây được đưa ra nhằm mục đích minh họa và không nhằm mục đích giới hạn phạm vi của sáng chế.

Các ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Thiết kế và thử nghiệm phân tử đặc hiệu kép với BAFF/B7RP1 dùng cho công dụng trị liệu ở người

Mục tiêu của loạt thử nghiệm này là tìm ra phân tử đặc hiệu kép mà (1) ức chế sự tăng sinh tế bào B do BAFF gây ra và quá trình tăng sinh tế bào T do B7RP1 gây ra, (2) có hoạt tính cao trong các thử nghiệm sinh học, và (3) có các tính chất lý sinh thuận lợi. Nhiều kiểu thiết kế dạng sơ đồ đối với quá trình dung hợp peptit mà liên kết BAFF của người với kháng thể IgG kháng B7RP1 của người (chất kháng huB7RP1) được minh họa trên hình 1. Trình tự của peptit liên kết với BAFF được nêu trong SEQ ID NO:1, và các trình tự của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch của chất kháng huB7RP1 lần lượt được nêu trong SEQ ID NO:25 và trình tự nêu trong SEQ ID NO:19.

Để xác định xem kiểu thiết kế nào có các tính chất lý sinh tốt nhất, trong khi giữ lại hoạt tính sinh học, các phân tử đặc hiệu kép được vẽ dưới dạng sơ đồ trên hình 1 được tạo ra và được thử nghiệm. Trong một cấu trúc, hai bản sao nối tiếp của peptit liên kết với BAFF có một liên kết xen giữa (“liên kết 1K”, có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:24) được dung hợp với đầu tận cùng N của chuỗi nặng của globulin miễn dịch (P71617) hoặc chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch (P71618) của chất kháng huB7RP1. Xem hình 1. Trình tự axit amin của chuỗi nặng của

P71617 được nêu trong SEQ ID NO:26, và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của P71617 là tương tự với trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch của chất kháng huB7RP1 (SEQ ID NO:19). Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của P71618 được nêu trong SEQ ID NO:27, và trình tự axit amin của chuỗi nặng của P71618 là tương tự với chuỗi nặng của globulin miễn dịch của chất kháng huB7RP1 (SEQ ID NO:25). Hai bản sao nối tiếp của peptit liên kết với BAFF cũng được dung hợp với đầu tận cùng C của chuỗi nặng của globulin miễn dịch của chất kháng huB7RP1 (có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:25) bằng cách sử dụng liên kết 1K nêu trên (có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:24; P71619) hoặc liên kết 5X(G4S) (SEQ ID NO: 71) giữa hai peptit liên kết với BAFF (P71620). Các trình tự axit amin của các chuỗi nặng của hai cấu trúc dung hợp này được nêu trong SEQ ID NO:16 (P71619) và trình tự nêu trong SEQ ID NO:28 (P71620). Trong cấu trúc P71621, hai bản sao nối tiếp của peptit liên kết với BAFF có liên kết 1K xen giữa được chèn vào miền CH3 của kháng thể giữa gốc 358 và 359 của trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:25 (trình tự axit amin của chuỗi nặng của globulin miễn dịch của kháng thể kháng huB7RP1). Trình tự của chuỗi nặng của cấu trúc P71621 được nêu trong SEQ ID NO:29. Trong cấu trúc P71622, peptit liên kết với BAFF được chèn vào miền CH3 của chuỗi nặng của globulin miễn dịch của chất kháng huB7RP1 (giữa gốc 358 và 359 nêu trong SEQ ID NO:25 và bản sao thứ hai của peptit liên kết với BAFF được dung hợp với đầu tận cùng C của chuỗi nặng. Trình tự axit amin của chuỗi nặng của P71622 được nêu trong SEQ ID NO:30. Trong cấu trúc P71623, một peptit liên kết với BAFF được chèn vào vùng CH2 (giữa gốc 268 và 269 nêu trong SEQ ID NO:25), và peptit liên kết với BAFF thứ hai được chèn vào vùng CH3 (giữa gốc 358 và 359 nêu trong SEQ ID NO:25). SEQ ID NO:31 là trình tự axit amin của chuỗi nặng của P71623. Các cấu trúc P71619-P71623 đều có chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch của chất kháng huB7RP1 (SEQ ID NO:19).

Trong cấu trúc P74293 và cấu trúc P74294, liên kết giữa hai bản sao nối tiếp của các peptit liên kết với BAFF trong cấu trúc P71619 được cải biến. Các trình tự axit amin của các chuỗi nặng của P74293 và P74294 lần lượt được nêu trong SEQ ID NO:17 và trình tự nêu trong SEQ ID NO:18. Các chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch của các cấu trúc này cũng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19.

Các axit nucleic mã hóa các cấu trúc được mô tả trên đây được tạo ra như sau. Các axit nucleic mã hóa phần đầu tận cùng N của các thể dung hợp peptit BAFF có đầu tận cùng N (P71617 và P71618), bao gồm hai bản sao của peptit liên kết với BAFF cộng với vùng biến đổi của chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng của globulin miễn dịch, được tạo ra bằng cách tổng hợp. Các thành phần này được buộc, thông qua các vị trí endonucleaza giới hạn thuận tiện, vào các axit nucleic mã hóa vùng ổn định của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch trong các vật truyền thích hợp. Các axit nucleic mã hóa các thể dung hợp có đầu tận cùng C của vùng ổn định của chuỗi nặng (P71619 và P71620), các đoạn chèn vòng Fc (P71621 và P71623), và đoạn chèn vòng Fc/thể dung hợp có đầu tận cùng C (P71622) đều được tạo ra bằng cách tổng hợp và được buộc vào vật truyền chứa vùng biến đổi của chuỗi nặng thông qua các vị trí endonucleaza giới hạn thuận tiện.

Các cấu trúc đặc hiệu kép khác nhau được mô tả trên đây được biểu hiện trong cả tế bào 293 được chuyển nhiễm một cách nhất thời và tế bào CHO được chuyển nhiễm một cách ổn định. Các protein dung hợp được tinh chế và được thử nghiệm về hoạt tính sinh học. Đã không quan sát thấy sự khác biệt nào về các protein được tạo ra trong hai loại tế bào chủ khác nhau này.

Hoạt tính ức chế BAFF của các phân tử đặc hiệu kép được thử nghiệm trong thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào B sơ cấp của người do BAFF gây ra. Nói một cách ngắn gọn, các tế bào B của người được tinh chế từ các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cell - PBMC) bằng cách áp dụng phương pháp chọn lọc âm tính bằng cách sử dụng kit tế bào B của người II mua được từ Miltenyi Biotec (Auburn, CA). Khoảng 10^5 tế bào B đã tinh chế được nuôi cấy trong các đĩa vi chuẩn độ có 96 lỗ trong môi trường thiết yếu tối thiểu (Minimal Essential Media - MEM) cộng với 10% huyết thanh bào thai bò (fetal bovine serum - FBS) được làm bất hoạt bằng nhiệt khi có mặt 50ng/ml protein BAFF của người, 2 μ g/ml F(ab')₂ IgM của dê kháng kháng thể của người (Jackson ImmunoResearch), và các nồng độ khác nhau của một trong số các protein đặc hiệu kép được mô tả trên đây ở 37°C trong 5% CO₂ trong 48 giờ. Thể peptit kháng BAFF được sử dụng làm đối chứng dương tính ("αBAFF", thể peptit này là homodime chứa hai chuỗi polypeptit, mỗi chuỗi chứa hai peptit liên kết với BAFF được dung hợp với

polypeptit Fc). Phân tử α BAFF được mô tả một cách chi tiết trong patent Mỹ 7,259,137, và trình tự axit amin của một chuỗi polypeptit của homodime này được nêu trong SEQ ID NO:32. Các phần của patent Mỹ 7,259,137 mô tả α BAFF được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Mức tăng sinh được đo theo mức hấp thụ ^3H -thymidin có hoạt tính phóng xạ trong suốt 18 giờ cuối cùng của quá trình ủ. Các kết quả được thể hiện trên hình 2A và hình 2B.

Dữ liệu trên hình 2A thể hiện rằng hai cấu trúc dung hợp có đầu tận cùng C (P71619 và P71620) là tương đương nhau về khả năng ức chế sự tăng sinh tế bào B do BAFF gây ra và công hiệu hơn tất cả các cấu trúc dung hợp khác được thử nghiệm trong thử nghiệm này. Đã không tiếp tục với P71620 vì nó có xu hướng kết tụ, một tính chất mà hoàn toàn không mong muốn ở protein trị liệu. Dữ liệu trên hình 2B thể hiện rằng P71619 là tương đương với hai phiên bản được cải biến ở mức nhẹ của cấu trúc này được mô tả trên đây (P74293 và P74294) và với đối chứng dương tính (α BAFF) về khả năng ức chế sự tăng sinh tế bào B do BAFF gây ra. Vì vậy, trong số các cấu trúc đặc hiệu kép được thử nghiệm, P71619, P71620, P74293, và P74294 có hoạt tính tương đương trong thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào B do BAFF gây ra này và hoạt tính tốt hơn so với tất cả các cấu trúc khác được thử nghiệm.

Hoạt tính ức chế B7RP1 của P71619, P74293, và P74294 được thử nghiệm bằng cách sử dụng thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào T do Fc B7RP1 của người gây ra. Các tế bào T sơ cấp của người được tinh chế từ PBMC từ đối tượng cho là người khỏe mạnh bằng cách sử dụng kit phân lập tế bào T Pan mua được từ Miltenyi Biotec (Auburn, CA) và được kích thích bằng kháng thể kháng CD3 đã bám vào đĩa (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) và protein dung hợp Fc-B7RP1 (3 $\mu\text{g}/\text{ml}$) khi có mặt các nồng độ khác nhau của các protein đặc hiệu kép được mô tả trên đây hoặc kháng thể IgG2 kháng B7RP1 của người (trong bản mô tả này được gọi là " α B7RP1"). ^3H -thymidin được bổ sung vào các tế bào sau 48 giờ, và mức sát nhập ^3H -thymidin được đo 24 giờ sau đó. Tất cả các kháng thể đặc hiệu kép mà được thử nghiệm có trị số IC_{50} tương tự, trị số này là tương tự với trị số của α B7RP1 (hình 3). Vì vậy, các dữ liệu này cho thấy rằng dạng tiếp hợp của các peptit liên kết với BAFF với kháng thể kháng

huB7RP1 có ít tác dụng hoặc không có tác dụng đối với khả năng của kháng thể này ức chế hoạt tính B7RP1.

Ái lực liên kết của các kháng thể đặc hiệu kép dạng heterodime P74293 và P74294 với BAFF và B7RP1 được đo bằng thử nghiệm loại trừ theo động học (Kinetic Exclusion Assay) (KinExA[®]; Sapidyme Instruments, Boise, Idaho). Cả hai kháng thể đều có ái lực liên kết cao với BAFF của người (có trị số K_d khoảng 30pM) và đối với B7RP1 của người (có trị số K_d khoảng 40pM). Xem bảng 2 dưới đây. Ngoài ra, cả hai chất đặc hiệu kép này đều có ái lực liên kết tương tự với BAFF của khỉ đuôi dài so với BAFF của người và với B7RP1 của khỉ đuôi dài so với B7RP1 của người. Bảng 2.

Bảng 2: Ái lực liên kết và độ công hiệu tế bào của P74293 và P74294.

	P74293	P74294
K_d (pM) để liên kết với BAFF của người	29	37
K_d (pM) để liên kết với BAFF của khỉ đuôi dài	22,3	17,4
IC ₅₀ (nM) để ức chế sự tăng sinh tế bào B của người do BAFF gây ra	0,86	0,96
IC ₅₀ (nM) để ức chế sự tăng sinh tế bào B của khỉ đuôi dài do BAFF gây ra	1,6	1,8
K_d (pM) để liên kết với B7RP1 của người	38	41
K_d (pM) để liên kết với B7RP1 của khỉ đuôi dài	49,4	45,2
IC ₅₀ (nM) để ức chế sự tăng sinh tế bào T của người do B7RP1 gây ra	1,36	0,98
IC ₅₀ (nM) để ức chế sự tăng sinh tế bào T của khỉ đuôi dài do B7RP1 gây ra	0,29	ND*

*ND có nghĩa là không được xác định.

Để đánh giá thêm hoạt tính của P74293 trong hệ thống *in vitro* bằng cách sử dụng tế bào của người, quá trình sản sinh xytokin bởi các tế bào amidan của người

được hoạt hóa bằng độc tố ruột tụ cầu khuẩn B (SEB) được đánh giá khi có mặt các phân tử thử nghiệm khác nhau. Nói một cách ngắn gọn, các tế bào amidan của người đã được phân lập ra khỏi mô và được kích thích bằng SEB (1 μ g/ml) khi có mặt một trong số các phân tử sau: (1) α B7RP1, (2) P74293, (3) CTLA4-Ig (đối chứng dương tính), hoặc (4) IgG của người (đối chứng âm tính). Sau 72 giờ nuôi cấy, dịch nổi trên bề mặt của tế bào được thu gom, và các lượng xytokin được đo bằng cách sử dụng kit do Meso Scale Discovery cung cấp theo các hướng dẫn của nhà sản xuất. Các kết quả được thể hiện trên hình 4.

Tất cả ba chất α B7RP1, P74293, và CTLA4-Ig, lần lượt là các cột 1, 2, và 3 ở tất cả các biểu đồ của hình 4, đã ức chế sự giải phóng IL-17, IL-10, IL-4, và IFN γ . Sự giải phóng IL-2 bị ức chế chỉ bởi CTLA4-Ig. Vì vậy, α B7RP1 và P74293 đặc hiệu kép kháng BAFF/B7RP1 có tác dụng tương đương và tác dụng đặc hiệu đến sự tiết xytokin bởi tế bào amidan của người do SEB hoạt hóa.

Ba protein đặc hiệu kép dạng heterodime, tức là P71619, P74293, và P74294, được kiểm tra về các tính chất bổ sung. Hiệu giá protein từ môi trường nuôi cấy các tế bào chủ sản sinh các protein này thể hiện rằng P74293 và P74294 được tạo ra với lượng gấp hai lần lượng P71619 được tạo ra. P74293 và P74294 cũng ổn định hơn P71619 sau khi bảo quản trong thời gian hai tuần ở 40°C như được đánh giá theo phương pháp sắc ký loại trừ theo kích thước (size exclusion chromatography - SEC). P74293 đã tạo dung dịch trong suốt vào lúc bắt đầu bảo quản và sau 4 tuần bảo quản, trong khi đó các dung dịch chứa P74394 mờ đục tại tất cả các thời điểm. Các dung dịch P74293 và P74294 có độ nhớt kém hơn so với các dung dịch P71619. Vì vậy, P74293 và P74294 được biểu hiện ở mức cao hơn P71619 và cũng ổn định hơn và có độ nhớt kém hơn ở nồng độ nằm trong khoảng được thử nghiệm so với P71619. Sự khác biệt rõ rệt nhất giữa các phân tử này nằm ở liên kết giữa hai peptit liên kết với BAFF. Các dữ liệu này cho thấy rằng các liên kết ở P74293 và P74294 (các trình tự nêu trong SEQ ID NO:6 và 7) có thể đem lại các tính chất được cải thiện cho các phân tử này.

Các tính chất dược động học của các phân tử đặc hiệu kép đã được mô tả được đánh giá ở chuột. Các con chuột CD-1 được cho dùng một liều duy nhất vào tĩnh mạch (IV) (5mg/kg) chứa các protein dung hợp đặc hiệu kép P71617,

P71619, P71621, P71622, P74293, hoặc P74294. Các mẫu huyết thanh được thu gom trước khi dùng thuốc và tại thời điểm 0,5 giờ, 2 giờ, 8 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 168 giờ, 240 giờ, 336 giờ, 408 giờ, 504 giờ sau khi dùng thuốc. Nồng độ của phân tử đặc hiệu kép này trong huyết thanh được xác định theo hai phương pháp ELISA, một phương pháp ghi nhận sự có mặt của phần Fc và một phương pháp ghi nhận sự có mặt của cả phần Fc và phần peptit liên kết với BAFF. Đối với phép đo phần Fc, kháng thể kháng Fc được biotin hóa được sử dụng làm chất phản ứng bắt, và kháng thể kháng Fc được đánh dấu bằng ALEXA FLUOR® 647 được sử dụng làm chất phản ứng có tác dụng phát hiện. Để phát hiện phần liên kết với BAFF và phần Fc của chất đặc hiệu kép, protein BAFF được biotin hóa được sử dụng làm chất phản ứng bắt, và kháng thể kháng Fc được đánh dấu bằng ALEXA FLUOR® 647 được sử dụng làm chất phản ứng có tác dụng phát hiện. Các protein đặc hiệu kép có hai bản sao nối tiếp của peptit liên kết với BAFF được dung hợp với đầu tận cùng N (P71617), đầu tận cùng C (P71619, P74293 và P74294) hoặc miền CH3 (P71621) của chuỗi nặng có các tính chất PK rất tương đồng ở chuột. Hình 5. Protein đặc hiệu kép có một bản sao của peptit liên kết với BAFF được chèn vào miền CH3 và bản sao kia được dung hợp với đầu tận cùng C của chuỗi nặng (P71622) có mức tiếp xúc thấp hơn so với các protein đặc hiệu kép khác. Hình 5. Ngoài ra, hai thử nghiệm ELISA khác nhau đem lại các mức nồng độ protein đặc hiệu kép trong huyết thanh tương đồng, cho thấy rằng không có sự phân cắt protein đặc hiệu kép đáng kể nào xảy ra *in vivo*.

Thông số dược động học và thông số dược lực học của các kháng thể đặc hiệu kép dạng heterodime P74293 và P74294 cũng được đánh giá bằng nghiên cứu liều duy nhất ở khỉ đuôi dài. Khỉ đuôi dài chưa quen thí nghiệm (n=4) được cho dùng một liều cao vào tĩnh mạch hoặc liều dưới da chứa P74293 (10mg/kg), hoặc một liều duy nhất dưới da chứa P74294 (10mg/kg). Cả hai phân tử đặc hiệu kép có các tính chất PK tương tự với tính chất PK của kháng thể IgG. Các thông số dược động học quan sát được của P74293 và P74294, cũng như của chất kháng huB7RP1, được đưa ra trong bảng 3 dưới đây.

Bảng 3: Các thông số dược động học ở khỉ đuôi dài

	P74293		P74294	Chất kháng huB7RP1	
	10mg/kg qua đường tĩnh mạch (IV)	10mg/kg qua đường dưới da (SC)	10mg/kg qua đường dưới da (SC)	10mg/kg qua đường tĩnh mạch (IV)	10mg/kg qua đường dưới da (SC)
Nồng độ thuốc tối đa (C_{max} ; $\mu\text{g/ml}$)	323	90	74	264	112
Thời điểm mà quan sát thấy C_{max} (T_{max} ; giờ)		45	51		72
Vùng dưới đường cong ($AUC_{0-\infty}$; $\mu\text{g}\cdot\text{giờ/ml}$)	33800	20300	22000	26100	23800
Thời gian lưu trung bình ($MRT_{0-\infty}$; giờ)	136	132	148	138	144
Tổng mức thanh thải (CL; ml/giờ/kg)	0,303	0,491	0,484	0,388	0,427
Thể tích phân bố ở trạng thái ổn định (V_{ss} ; ml/kg)	42,5			52,1	

Dữ liệu nêu trong bảng 3 thể hiện rằng các thông số dược động học của P74293 và P75294 là tương đương với nhau và với các thông số dược động học của kháng thể kháng huB7RP1.

Ví dụ 2: Thiết kế và thử nghiệm phân tử thay thế đặc hiệu kép của chuột

Để thực hiện các nghiên cứu tiền lâm sàng ở chuột, phân tử thay thế đặc hiệu kép của chuột mà có thể liên kết với B7RP1 của chuột và BAFF của chuột (dưới đây, “thuốc thay thế của chuột”) đã được thiết kế. Kháng thể kháng huB7RP1 dùng để thiết kế các cấu trúc đặc hiệu kép được mô tả trong ví dụ 1, không liên kết với B7RP1 của chuột, trong khi peptit liên kết với BAFF dùng trong các cấu trúc này liên kết với cả BAFF của người và BAFF của chuột. Dữ liệu không được thể hiện. Thuốc thay thế của chuột là kháng thể IgG kháng B7RP1 của chuột có tính đối kháng (được gọi là “chất kháng mB7RP1” trong bản mô tả này), thuốc này là thể khảm của các vùng ổn định của globulin miễn dịch của chuột và các vùng biến đổi của globulin miễn dịch của chuột chống kháng B7RP1 của chuột nhất. Cách sử dụng chất kháng mB7RP1 được mô tả trong tài liệu: Hu *et al.* (2009), *J. Immunol.* 182:

1421, trong đó chất này được ký hiệu là 1B7-V2. Thuốc thay thế của chuột có hai bản sao của peptit liên kết với BAFF (SEQ ID NO:1) được dung hợp thông qua một liên kết ngắn (dài năm axit amin) với đầu tận cùng C của chuỗi nặng của globulin miễn dịch của chất kháng mB7RP1. Hai bản sao của peptit liên kết với BAFF được phân cách bởi một liên kết khác mà dài 23 axit amin. Các axit nucleic mã hóa chuỗi nặng của thuốc thay thế của chuột được tạo ra bằng cách sử dụng PCR chồng lợp để nối các axit nucleic mã hóa phần liên kết với BAFF của α BAFF với đầu tận cùng nằm sau các axit nucleic mã hóa chuỗi nặng của 1B7-V2, tức là chất kháng mB7RP1.

Việc ức chế BAFF bằng thuốc thay thế của chuột được đánh giá trong thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào B do BAFF gây ra. Bạch huyết bào B của chuột đã được phân lập từ lách C57BL/6 theo phương pháp chọn lọc âm tính bằng vi hạt MACS CD43 (Ly-48) theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Miltenyi Biotec, Auburn, CA) hoặc từ PBMC bằng cách sử dụng kit phân lập tế bào B (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Tế bào B đã được tinh chế được kích thích bằng 0,1 μ g/ml chất kháng IgM và 200ng/ml BAFF khi có mặt các nồng độ khác nhau của thuốc thay thế của chuột hoặc α BAFF. Mức tăng sinh tế bào B đã được đo theo mức sát nhập 3 H-thymidin vào ngày 4. Trị số IC_{50} của thuốc thay thế của chuột và α BAFF lần lượt là 0,59nM và 0,73nM. Xem hình 6A. Vì vậy, thuốc thay thế của chuột đã ức chế một cách hữu hiệu BAFF với độ công hiệu tương đương với độ công hiệu của α BAFF.

Để đo mức ức chế sự liên kết của B7RP1 với thụ thể của nó bằng thuốc thay thế của chuột, trước tiên, các tế bào lách của chuột đã được hoạt hóa để tăng mức biểu hiện thụ thể B7RP1 của chúng bằng cách ủ chúng trong các lỗ vi chuẩn độ được phủ với kháng thể kháng CD3 (5 μ g/ml) trong 24 giờ. Các tế bào lách đã được hoạt hóa được rửa bằng dung dịch muối được đệm phosphat (PBS) và sau đó, được ủ với 5 μ g/ml muB7RP1 đã được biotin hóa: Fc khi có mặt các nồng độ khác nhau của thuốc thay thế của chuột ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào này được rửa và sau đó, được nhuộm bằng kháng thể kháng CD3 của chuột được tiếp hợp với allophycocyanin (APC) và streptavidin-phycoerythrin (Streptavidin-PE) trong 20 phút nữa. Sự liên kết Fc-B7RP1 với các tế bào T được phân tích theo phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy. Trị số IC_{50} của thuốc thay thế của chuột và chất kháng

mB7RP1 lần lượt là 4,01pM và 2,8pM. Xem hình 6B. Vì vậy, hoạt tính của thuốc thay thế của chuột là tương tự với hoạt tính của chất kháng mB7RP1 trong thử nghiệm này. Vì vậy, thuốc thay thế của chuột ức chế cả BAFF và B7RP1.

Các tác dụng được lực học *in vivo* của thuốc thay thế của chuột được đánh giá ở chuột được tạo miễn dịch bằng hồng cầu của cừu (sheep red blood cell - SRBC). Nói một cách ngắn gọn, các con chuột BALB/c (8 tuần tuổi) đã tiếp nhận lần tạo miễn dịch ban đầu vào ngày 0 và lần tạo miễn dịch tăng cường vào ngày 28 bằng dung dịch chứa 2×10^8 SRBC trong 0,2ml PBS thông qua phương pháp tiêm trong màng bụng. Các con chuột (n=5 đối với mỗi phân tử) được điều trị mỗi tuần hai lần từ ngày 0 đến ngày 33 bằng một trong số các phân tử sau với lượng 5mg/kg: thuốc thay thế của chuột; α BAFF; chất kháng mB7RP1; hoặc IgG1 của chuột. Các con chuột được điều trị bệnh bằng SBRC, mà không tiếp nhận một phương pháp điều trị bệnh khác, đóng vai trò là đối chứng dương. Các con chuột được làm chết vào ngày 34, và huyết thanh và lách được thu gom.

Để đo tỷ lệ của tế bào B và tế bào T nhớ ở lách, các tế bào lách được thu bằng cách nghiền mô lách qua màng lọc tế bào. Các tế bào lách này được ủ sơ bộ với chất kháng CD16/32 không được đánh dấu để phong bế sự liên kết không đặc hiệu của các kháng thể với thụ thể gamma Fc (Fc γ R). Tỷ lệ của tế bào B được xác định bằng cách nhuộm bằng chất kháng B220 được đánh dấu bằng PE (chất này được biểu hiện trong tế bào B). Tỷ lệ của các tế bào T nhớ (tế bào T CD44^{hi}CD62L^{lo}CD4) được xác định bằng cách nhuộm bằng chất kháng CD44 được tiếp hợp với FITC, chất kháng CD62L được tiếp hợp với PE, chất kháng CD4 được tiếp hợp với APC và chất kháng CD3 được tiếp hợp với PerCP. Tất cả các kháng thể nhuộm đều do BD Bioscience (San Diego, CA) cung cấp. Đối với cả việc xác định tế bào B và việc xác định tế bào T, phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy được thực hiện bằng thiết bị đếm tế bào theo dòng chảy FACSCALIBUR™ (BD Bioscience, San Jose, CA), và dữ liệu này được phân tích bằng cách sử dụng phần mềm FLOWJO® (TreeStar Inc., Ashland, OR) dùng để phân tích dữ liệu của phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy. Các kết quả được thể hiện trên hình 7.

Để đo lượng kháng thể kháng SBRC trong huyết thanh, các đĩa vi chuẩn độ được phủ kháng nguyên SRBC hòa tan với lượng 10 μ g/ml được ủ trong thời gian

hai giờ ở nhiệt độ trong phòng với huyết thanh loãng từ chuột được điều trị bệnh. Ig đặc hiệu với SRBC đã liên kết từ huyết thanh được phát hiện bằng kháng thể IgM và kháng thể IgG đa dòng của dê kháng kháng thể của chuột được tiếp hợp với HRP (Southern Biotech, Birmingham, AL). Phản ứng cơ chất được thực hiện bằng cách sử dụng cơ chất peroxidaza vi lỗ SUREBLUE™ TMB (KPL, Gaithersburg, MD) theo các hướng dẫn của nhà sản xuất, và mật độ quang học được đọc bằng cách sử dụng thiết bị đọc vi đĩa Spectrum Max (Molecular Devices). Là đối chứng dương tính, các dung dịch pha loãng theo bậc chứa hỗn hợp gồm các huyết thanh từ chuột được tạo miễn dịch bằng SRBC mà không có việc điều trị bệnh bất kỳ được bổ sung vào mỗi đĩa, và đường chuẩn được xây dựng từ các số đọc từ các lỗ này. Các lượng kháng thể kháng SRBC của các mẫu khác được thể hiện hình 7 ở dạng tỷ lệ phần trăm của đối chứng dương tính này.

Tỷ lệ phần trăm của các tế bào lách là tế bào B bị giảm xuống ở chuột đã được điều trị bệnh bằng thuốc thay thế của chuột so với tỷ lệ phần trăm quan sát được ở chuột đã được điều trị bệnh bằng IgG1 của chuột. Hình 7 (đồ thị trên cùng). Đã quan sát thấy mức giảm tương tự ở chuột đã được điều trị bệnh bằng α BAFF hoặc α BAFF cộng với chất kháng mB7RP1, nhưng không phải ở chuột đã được điều trị chỉ bằng chất kháng mB7RP1. Hình 7 (đồ thị trên cùng). Liên quan đến các tế bào T nhớ, các con chuột đã được điều trị bệnh bằng thuốc thay thế của chuột, chất kháng mB7RP1, hoặc chất kháng mB7RP1 cộng với α BAFF có tỷ lệ tế bào T nhớ giảm so với tỷ lệ tế bào T nhớ quan sát được ở chuột đã được điều trị bệnh bằng mIgG1. Hình 7 (đồ thị ở giữa). Ngược lại, phương pháp điều trị bệnh bằng α BAFF không làm thay đổi quần thể tế bào T nhớ ở lách so với quần thể tế bào T nhớ ở lách quan sát được với phương pháp điều trị bệnh mIgG. Hình 7 (đồ thị ở giữa). Thuốc thay thế của chuột cũng thể hiện khả năng làm giảm công hiệu lượng kháng thể kháng SRBC trong huyết thanh, tương tự với lượng kháng thể kháng SRBC quan sát được sau khi điều trị bệnh bằng chất kháng mB7RP1 hoặc chất kháng mB7RP1 cộng với α BAFF hoặc ở chuột mà đã không được tiêm SRBC. Hình 7 (đồ thị dưới cùng). Sự ức chế vừa phải lượng kháng thể kháng SRBC, so với lượng quan sát được với phương pháp điều trị bệnh bằng mIgG1, quan sát được ở chuột chỉ được điều trị bệnh bằng α BAFF. Hình 7 (đồ thị dưới cùng). Các dữ liệu

này thể hiện rằng thuốc thay thế của chuột có tác dụng ức chế kép trong ngăn tế bào B và ngăn tế bào T ở chuột *in vivo*.

Ảnh hưởng của thuốc thay thế của chuột đến bệnh được đánh giá ở mô hình NZB/W F₁ luput bằng cách sử dụng hai liều lượng khác nhau của mỗi phân tử trong số các phân tử được thử nghiệm. Chuột NZB/W F₁ cái (4,5 tháng tuổi, n=20) được điều trị mỗi tuần hai lần theo phương pháp tiêm trong màng bụng trong 18 tuần bằng cách áp dụng từng chế độ liều dùng trong số các chế độ liều dùng sau: 5mg/kg hoặc 15mg/kg thuốc thay thế của chuột (MW $\approx$ 160KDa); 4,68mg/kg hoặc 14mg/kg chất kháng mB7RP1 (MW $\approx$ 150KDa); 1,88mg/kg hoặc 5,6mg/kg α BAFF (MW $\approx$ 64KDa); hỗn hợp gồm α BAFF (1,88mg/kg hoặc 5,6mg/kg) và chất kháng mB7RP1 (4,68mg/kg hoặc 14mg/kg); IgG1 của chuột (15mg/kg; đối chứng kiểu tương đương); hoặc dung dịch muối được đệm phosphat (PBS) (đối chứng âm tính). Mức protein-niệu được đo trong nước tiểu bằng cách sử dụng ALBUSTIX[®] (Bayer, Elkhart, IN) hai tuần một lần bắt đầu vào thời điểm 5 tháng tuổi. Tỷ lệ mắc bệnh protein-niệu được biểu thị ở dạng tỷ lệ phần trăm các con chuột có protein trong nước tiểu ở nồng độ ít nhất là 300mg/dl trong hai lần đo liên tiếp. Lượng IgG kháng dsDNA trong huyết thanh được đo theo ELISA. Việc tính điểm đối với bệnh thận của tất cả các con chuột được thực hiện theo phương pháp kiểm tra các mẫu mô thận đối với tám loại tổn thương khác nhau, tức là tăng sinh mao quản cầu thận, tăng sản tế bào màng nâng vòng mao mạch, chất nền màng nâng vòng mao mạch tăng, kết dính búi cầu thận, tăng sản biểu mô vách, bệnh viêm thận kẽ, giãn ống thận/xác protein, và teo ống thận/xơ hóa mô kẽ. Mỗi loại tổn thương được cho điểm số về mức độ trầm trọng từ 0 đến 5, để có được điểm số tối đa có thể có là 32. Các điểm số của mỗi nhóm chuột được tính trung bình. Tỷ lệ sống sót được theo dõi.

Vào thời điểm 12 tháng tuổi, không có con chuột nào trong số các con chuột đã được điều trị bệnh bằng thuốc thay thế của chuột ở một trong số hai mức liều lượng phát triển bệnh protein-niệu. Ngược lại, 100% số chuột đã được điều trị bệnh bằng IgG1 của chuột hoặc PBS ở cả hai mức liều lượng được thử nghiệm đã thể hiện bệnh protein-niệu. Hình 8A và hình 9B. Lần lượt khoảng 60% và 35% số chuột đã được điều trị bệnh bằng các mức liều lượng chất kháng mB7RP1 và α BAFF thấp hơn, và lần lượt khoảng 50% và 25% số chuột đã được điều trị bệnh bằng các mức

liều lượng chất kháng mB7RP1 và α BAFF cao hơn, đã phát triển protein-niệu. Hình 8A và hình 9B. Ngoài ra, thuốc thay thế của chuột điều trị ở cả hai mức liều lượng gây ra sự giảm đáng kể về lượng IgG kháng dsDNA trong huyết thanh so với đối chứng âm tính đã được điều trị bệnh bằng mIgG1. Hình 8B và hình 9A. Phương pháp điều trị bệnh đặc hiệu kép cũng cải thiện một cách đáng kể tỷ lệ sống sót so với nhóm đối chứng dùng mIgG và nhóm đối chứng dùng PBS. Dữ liệu không được thể hiện. Tuy nhiên, không có sự khác biệt rõ rệt nào về tỷ lệ sống sót quan sát được giữa phương pháp điều trị bệnh đặc hiệu kép so với phương pháp điều trị bệnh bằng một chất đơn lẻ tại thời điểm kết thúc thử nghiệm.

Thận của tất cả các con chuột đã được điều trị bệnh, kể cả các con chuột chết trước khi kết thúc thử nghiệm, được thu gom dùng để tính điểm mô học đối với mức độ trầm trọng của bệnh thận. Các nhóm chuột đã được điều trị bệnh bằng α BAFF, hỗn hợp gồm α BAFF cộng với chất kháng mB7RP1, hoặc thuốc thay thế của chuột đã có điểm số thấp hơn một cách đáng kể đối với bệnh thận so với nhóm đối chứng đã được điều trị bệnh bằng mIgG1. Hình 10. Các nhóm đã được điều trị bệnh bằng thuốc thay thế đặc hiệu kép hoặc hỗn hợp này cũng thể hiện xu hướng thiên về bệnh lý thận giảm so với các nhóm đã điều trị bệnh bằng một chất đơn lẻ, một kết quả mà có tương quan rõ ràng với các kết quả của bệnh protein-niệu được mô tả trên đây. So sánh hình 10 với hình 8A và hình 9B. Nói tóm lại, sự ức chế kép BAFF và B7RP1 bằng thuốc thay thế của chuột hoặc theo phương pháp điều trị bệnh kết hợp bằng α BAFF cộng với chất kháng mB7RP1 là hữu hiệu hơn sự ức chế chỉ bằng BAFF (α BAFF) hoặc chỉ bằng B7RP1 (chất kháng mB7RP1) trong việc phòng ngừa sự khởi phát bệnh và sự tiến triển ở mô hình NZB/W F₁ luput.

Để xác định xem liệu sự ức chế bằng cả BAFF và B7RP1 có thể ức chế một cách hữu hiệu các triệu chứng của bệnh viêm khớp do collagen gây ra ở chuột hay không, thử nghiệm sau được tiến hành. Các con chuột DBA đực được tạo miễn dịch bằng 100 μ g collagen của bò typ II được nhũ hóa trong 2 x tá chất Freund hoàn chỉnh (Complete Freund's adjuvant-CFA) vào ngày 0 và được tiêm tăng cường bằng collagen của bò typ II trong tá chất Freund không hoàn chỉnh (Incomplete Freund's Adjuvant IFA) vào ngày 21. Các con chuột đã được điều trị bệnh bằng một trong số các chất thử nghiệm mỗi tuần hai lần trong suốt tiến trình nghiên cứu 41 tuần bắt

đầu vào ngày 0. Tỷ lệ phần trăm của các con chuột trong mỗi nhóm thể hiện các triệu chứng của bệnh viêm khớp và điểm số về bệnh viêm khớp trung bình của mỗi nhóm được đánh giá tại mỗi thời điểm. Các điểm số về bệnh viêm khớp được xác định bằng cách kiểm tra mỗi chi và gán điểm số 0 đến 3 cho mỗi chi, mà điểm số cao hơn cho chi bị sưng nặng hơn và/hoặc chi bị viêm nặng hơn. Vì vậy, tổng điểm số về bệnh viêm khớp tối đa 12. Chuột được tính là mắc bệnh viêm khớp nếu nó có điểm số về bệnh viêm khớp ít nhất là 1 ở chi bất kỳ.

Các kết quả được thể hiện trên hình 11. Các dữ liệu này thể hiện rằng hỗn hợp gồm α BAFF và chất kháng mB7RP1 (các hình tròn được gạch kín được kết nối bằng các đường nét liền) là hữu hiệu hơn nhiều trong việc ức chế các triệu chứng viêm khớp so với α BAFF (các hình tròn để trống được kết nối bằng các đường nét liền) hoặc bằng một mình chất kháng mB7RP1 (các hình tròn được gạch kín được kết nối bằng các đường nét đứt). Các nhóm đối chứng âm tính đã được điều trị bệnh bằng mIgG (các hình vuông được gạch kín được kết nối bằng các đường nét liền) hoặc PBS (các hình vuông được gạch kín được kết nối bằng các đường nét đứt) có tỷ lệ mắc bệnh viêm khớp tính theo phần trăm cao nhất và điểm số bệnh viêm khớp cao nhất. Các kết quả này cho thấy rằng việc ức chế cả bằng BAFF lẫn B7RP1, trái với việc ức chế chỉ bằng một trong số các chất này, có thể là phương pháp điều trị bệnh hữu hiệu đối với tình trạng bệnh lý tự miễn và/hoặc tình trạng bệnh lý viêm khớp như bệnh viêm đa khớp dạng thấp.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Protein đặc hiệu kép, trong đó protein này bao gồm:

(a) polypeptit chứa trình tự axit amin có công thức sau:

A-L1-P-L2-P, trong đó A là chuỗi nặng của globulin miễn dịch của kháng thể IgG, L1 là liên kết peptit thứ nhất mà không có mặt hoặc có chiều dài từ 3 đến 40 axit amin, P là peptit liên kết với BAFF mà có chiều dài từ 10 đến 40 axit amin, và L2 là liên kết peptit mà không có mặt hoặc có chiều dài từ 5 đến 50 axit amin, và

(b) chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch của kháng thể IgG, trong đó chuỗi nặng của globulin miễn dịch nêu trong mục (a) và chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch nêu trong mục (b) tạo ra kháng thể IgG liên kết với B7RP 1, trong đó protein này chứa hai phân tử polypeptit (a) và hai phân tử chuỗi nhẹ (b);

trong đó protein đặc hiệu kép này chứa CDR1 của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:8 (RASQGISNWLA), CDR2 của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:9 (AASSLQS), CDR3 của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:10 (QQYDSYPRT), CDR1 của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:11 (SYWMS), CDR2 của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:12 (YIKQDGNEKYYVDSVKG), và CDR3 của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:13 (EGILWFGDLPTF).

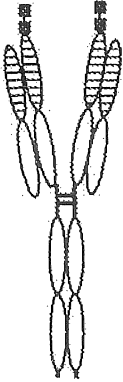
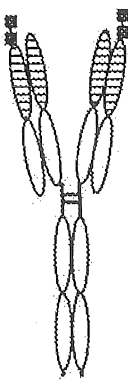
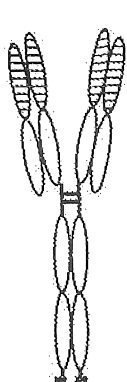
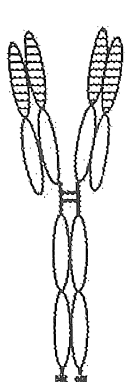
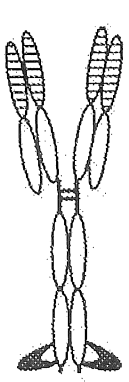
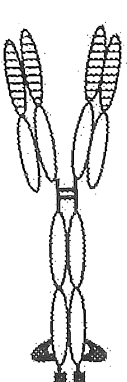
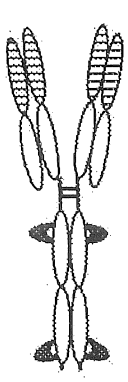
2. Protein đặc hiệu kép theo điểm 1, trong đó chuỗi nặng của globulin miễn dịch mất lysin ở đầu tận cùng C của nó nằm ngay trước L1.

3. Protein đặc hiệu kép theo điểm 1 hoặc 2, trong đó kháng thể IgG này là kháng thể IgG1 kháng B7RP1 của người hoặc được làm giống như kháng thể của người.

4. Protein đặc hiệu kép theo điểm 1 hoặc 2, trong đó kháng thể kháng B7RP1 này là kháng thể IgG2 của người hoặc được làm giống như kháng thể của người, hoặc kháng thể IgG4 của người hoặc được làm giống như kháng thể của người.

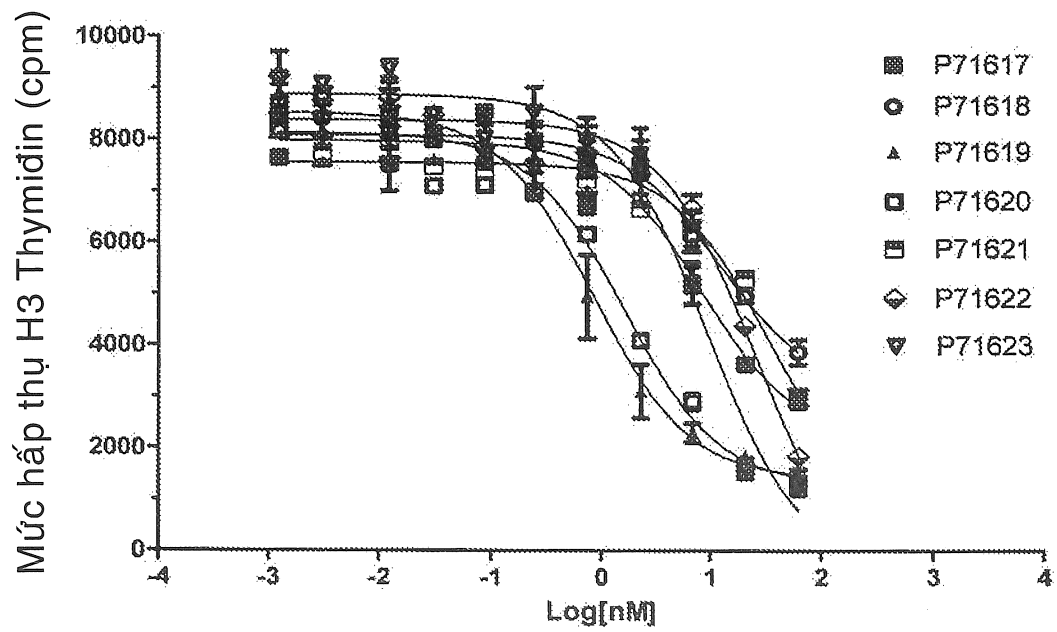
5. Protein đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó P có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:1 (LPGCKWDLLIKQWVCDPL).
6. Protein đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:40 (GGGGG).
7. Protein đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó L2 này có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, hoặc SEQ ID NO:7.
8. Protein đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó protein này chứa vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:14.
9. Protein đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó protein này chứa vùng biến đổi của chuỗi nặng của globulin miễn dịch chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:15.
10. Protein đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 5 đến 9, trong đó chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch nêu trong mục (b) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19.
11. Protein đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 5 đến 10, trong đó polypeptit nêu trong mục (a) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:17 hoặc 18.
12. Protein đặc hiệu kép theo điểm 1, trong đó:
 - (a) polypeptit (a) theo điểm 1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:17 hoặc SEQ ID NO:18 và
 - (b) polypeptit (b) theo điểm 1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19.
13. Protein đặc hiệu kép theo điểm 12, trong đó polypeptit nêu trong mục (a) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:17.

14. Protein đặc hiệu kép theo điểm 12, trong đó polypeptit nêu trong mục (b) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:18.
15. Dược phẩm chứa protein đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14 và tá dược chấp nhận được về mặt sinh lý.
16. Axit nucleic mã hóa protein đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14.
17. Vật truyền chứa axit nucleic theo điểm 16.
18. Tế bào chủ chứa axit nucleic theo điểm 16 và/hoặc vật truyền theo điểm 17.
19. Phương pháp tạo protein đặc hiệu kép bao gồm bước:
nuôi tế bào chủ theo điểm 18 trong các điều kiện sao cho axit nucleic được biểu hiện và thu hồi protein từ khối tế bào hoặc môi trường nuôi cấy này.
20. Phương pháp theo điểm 19, trong đó tế bào chủ là tế bào động vật có vú, hoặc tế bào *Escherichia coli*, tốt hơn là trong đó tế bào động vật có vú là tế bào CHO.

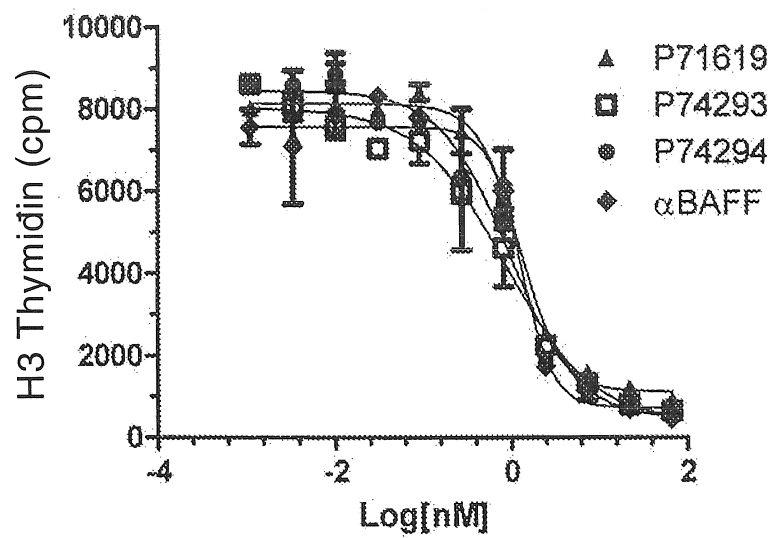
Tên cấu trúc	P71617	P71618	P71619	P71620	P71621	P71622	P71523
Đặc tính cấu trúc	HC-thể dung hợp-C	LC-thể dung hợp-N	1K-thể dung hợp-C	G4S-thể dung hợp-C	2x-vòng Fc	1x vòng Fc 1x thể dung hợp-C	1x CH2 1x CH3
Kiểu dáng cấu trúc							

Hình 1

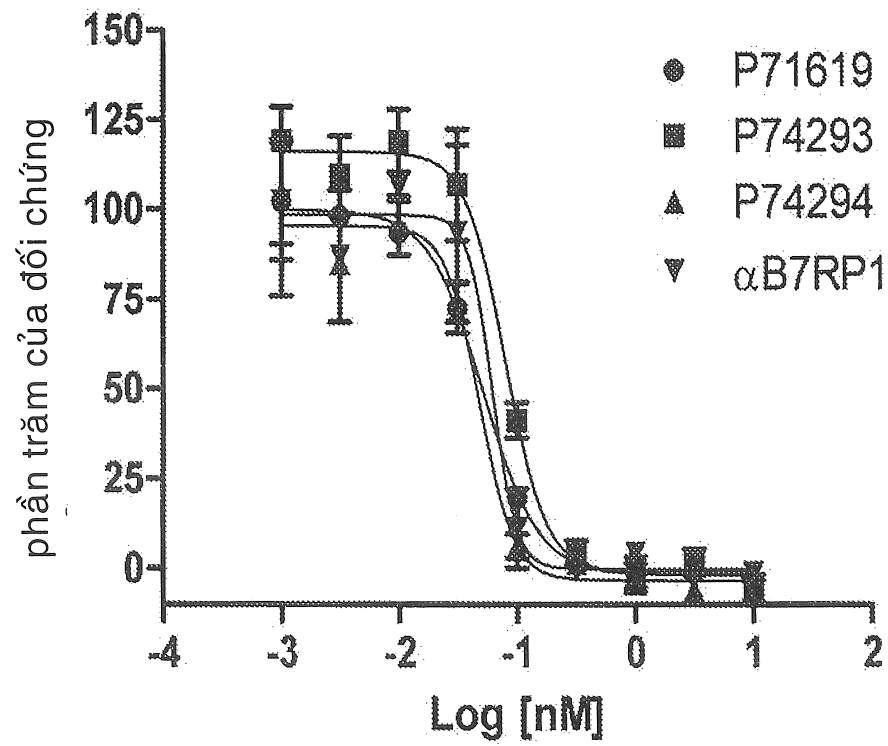
2/11



Hình 2A

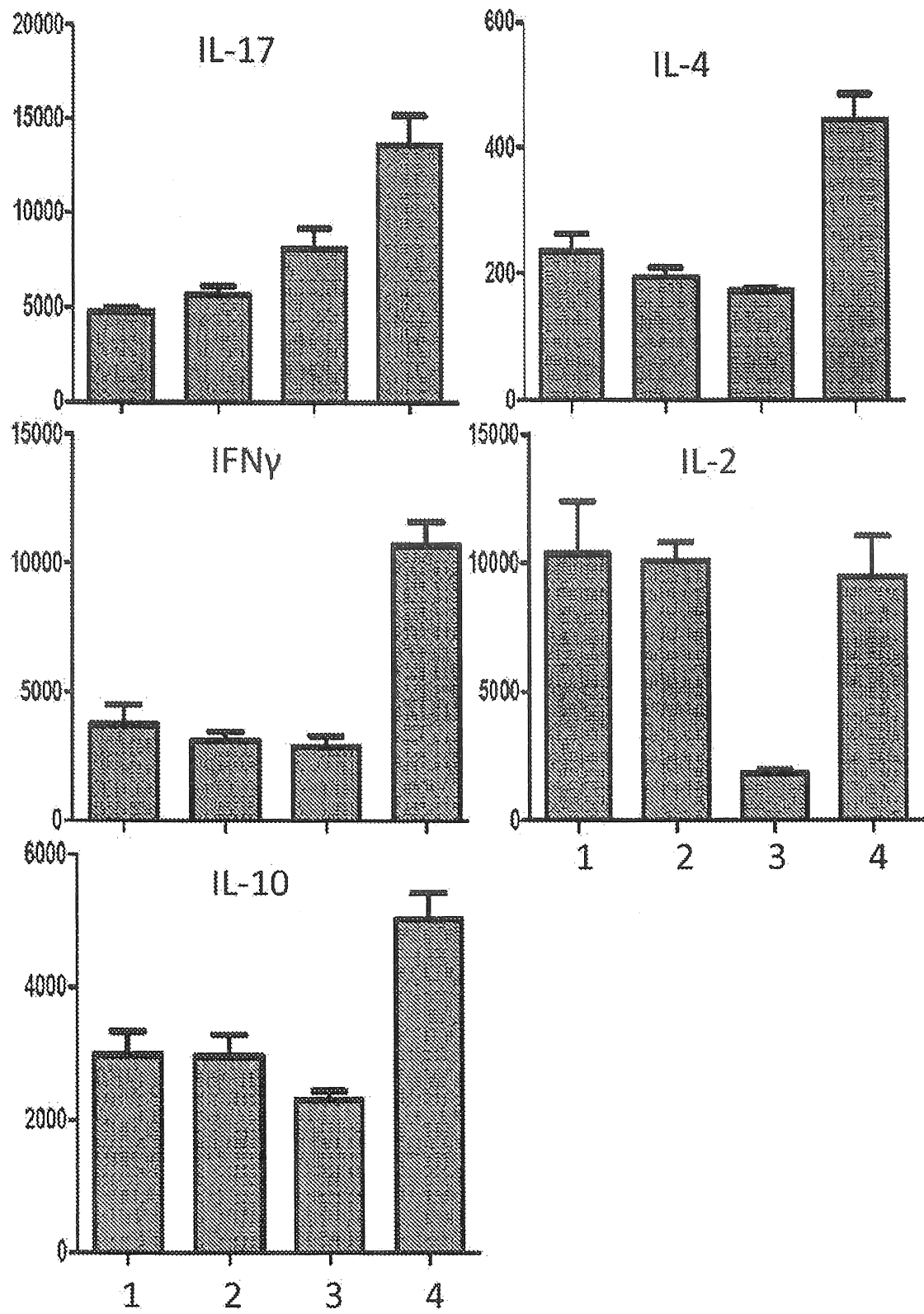


Hình 2B



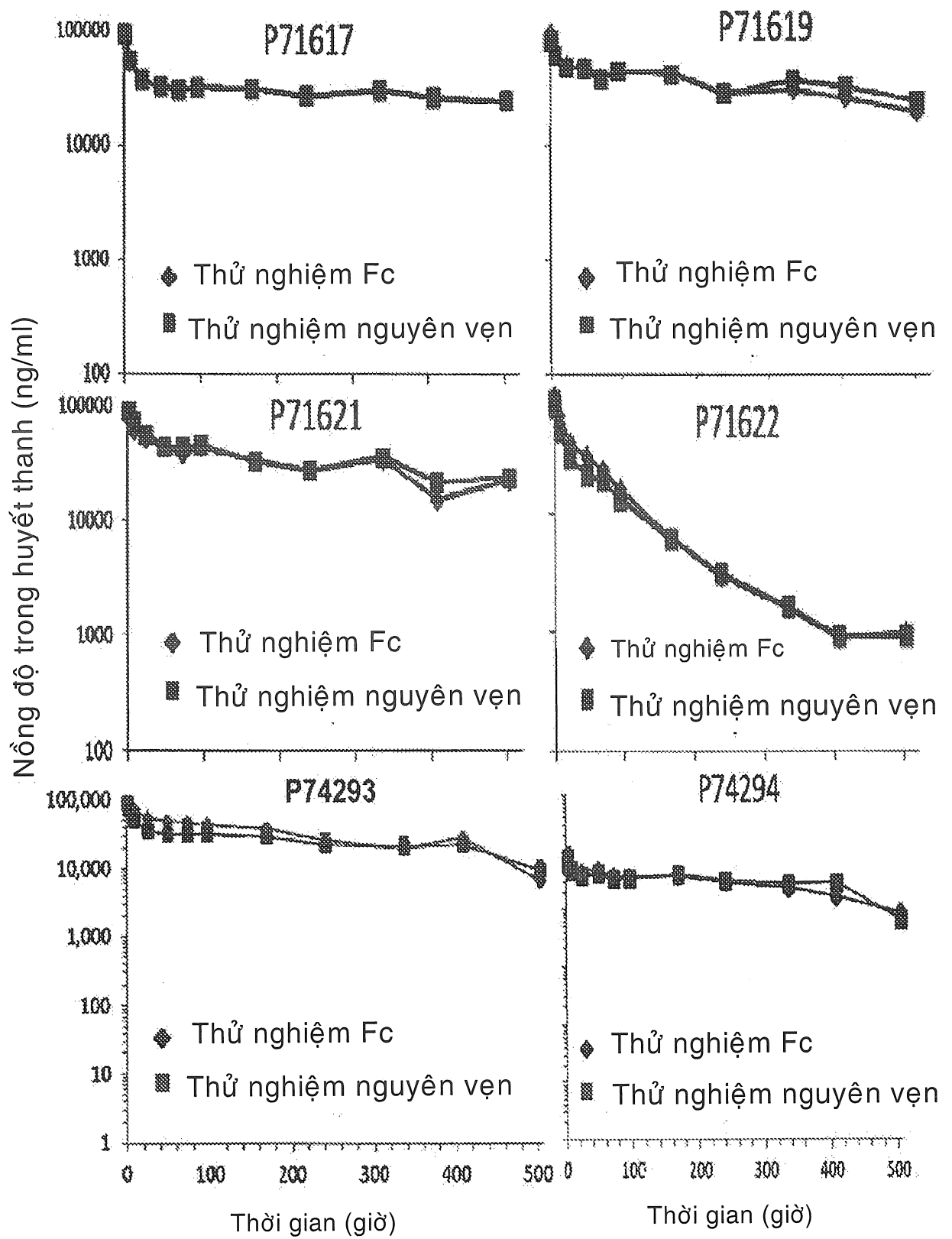
Hình 3

4/11



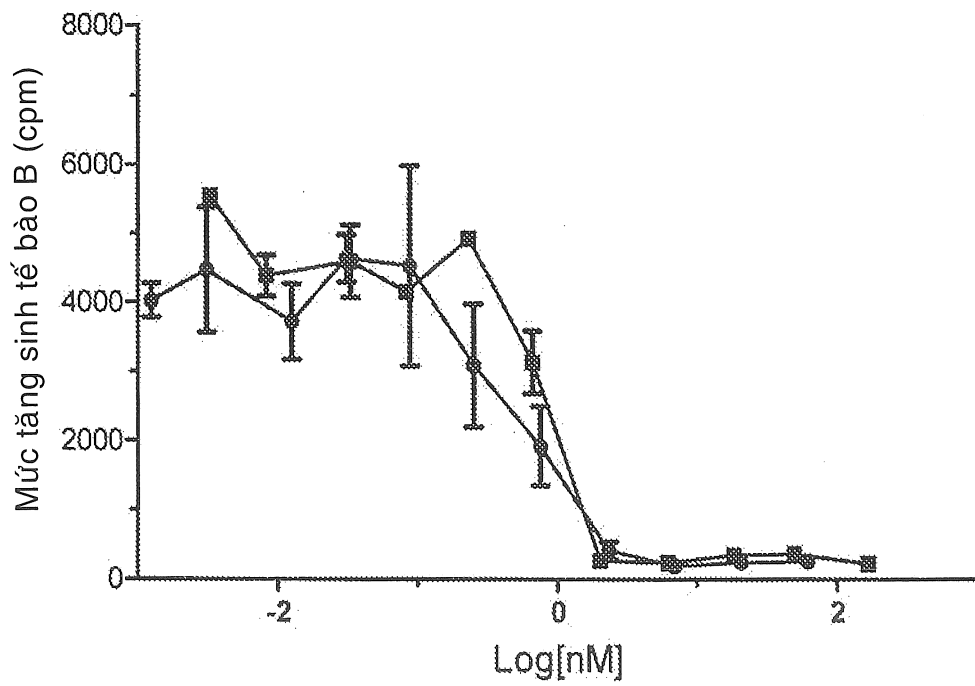
Hình 4

5/11

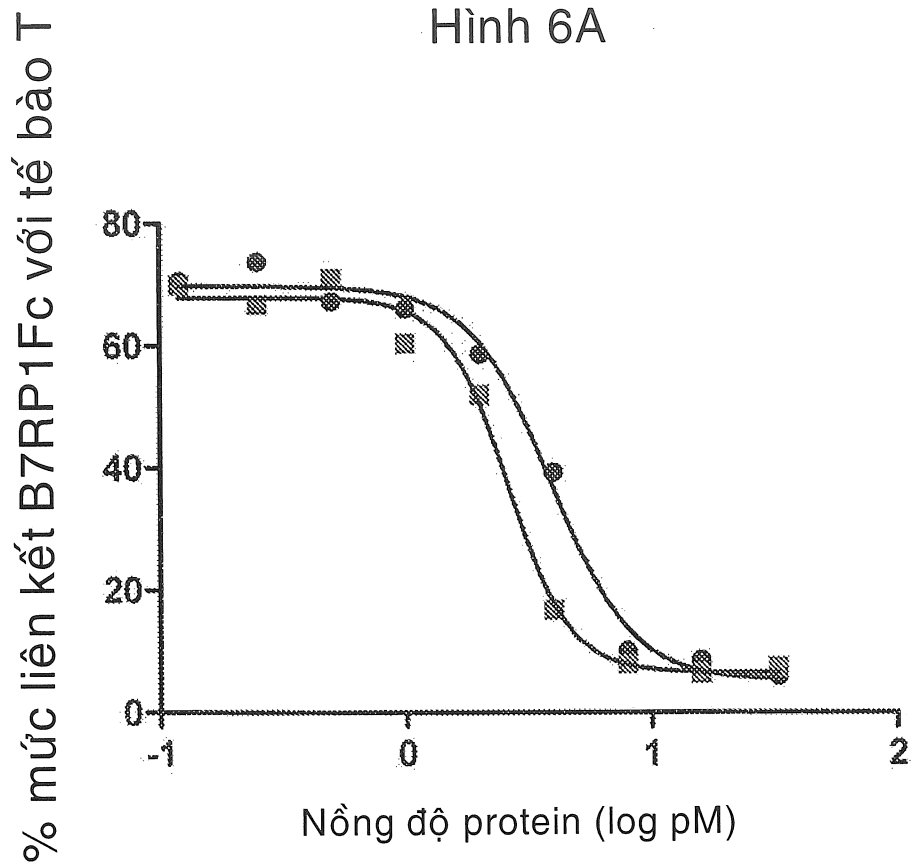


Hình 5

6/11

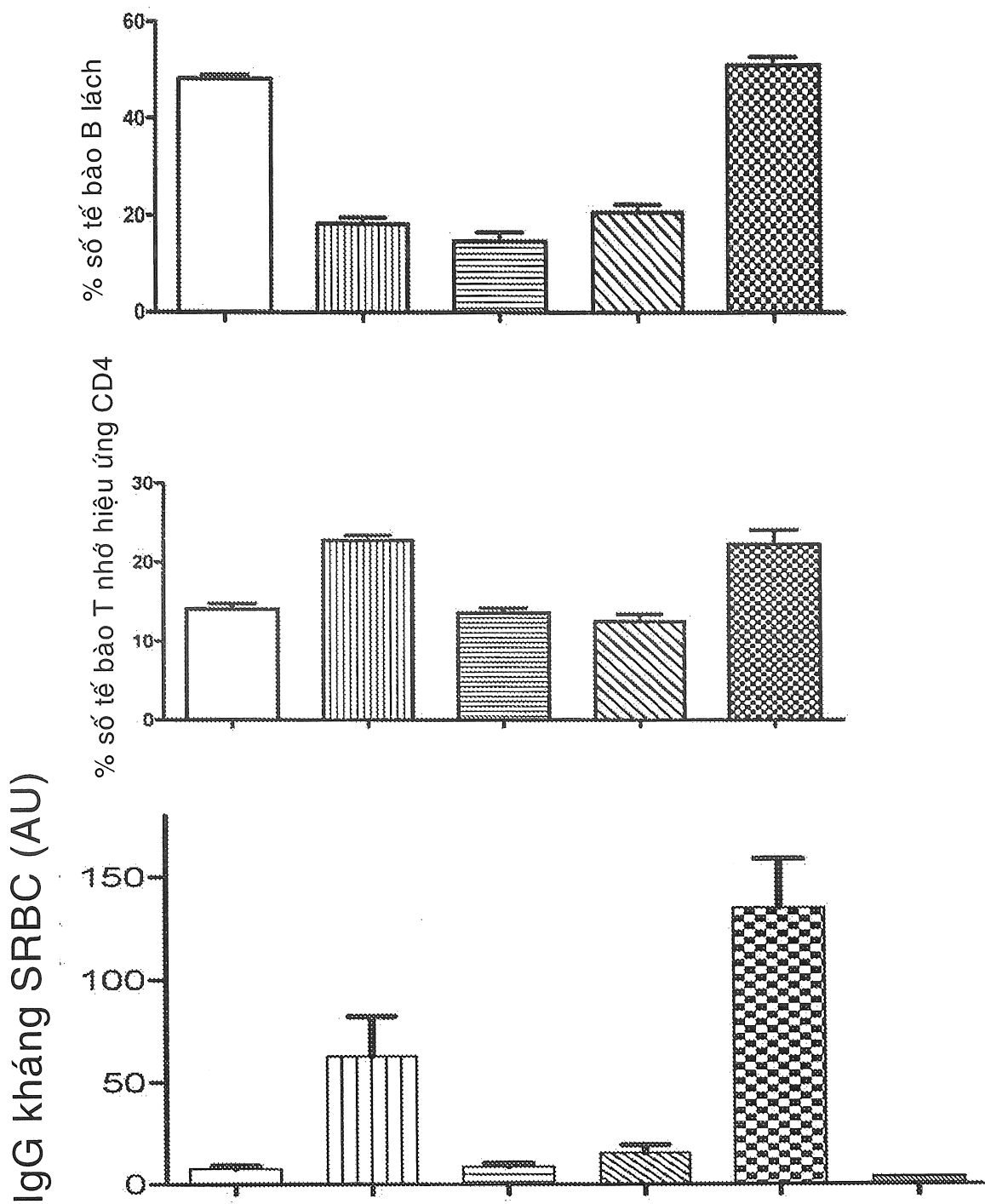


Hình 6A



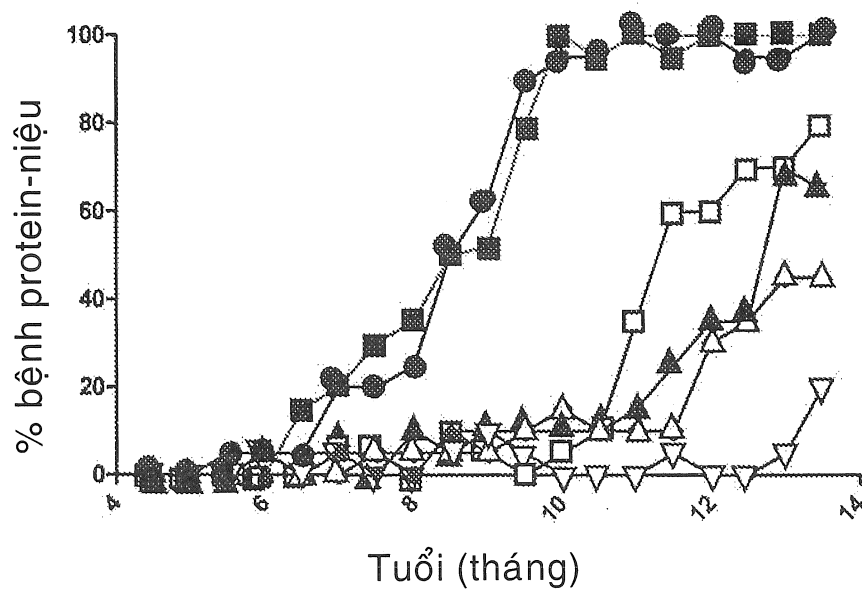
Hình 6B

7/11

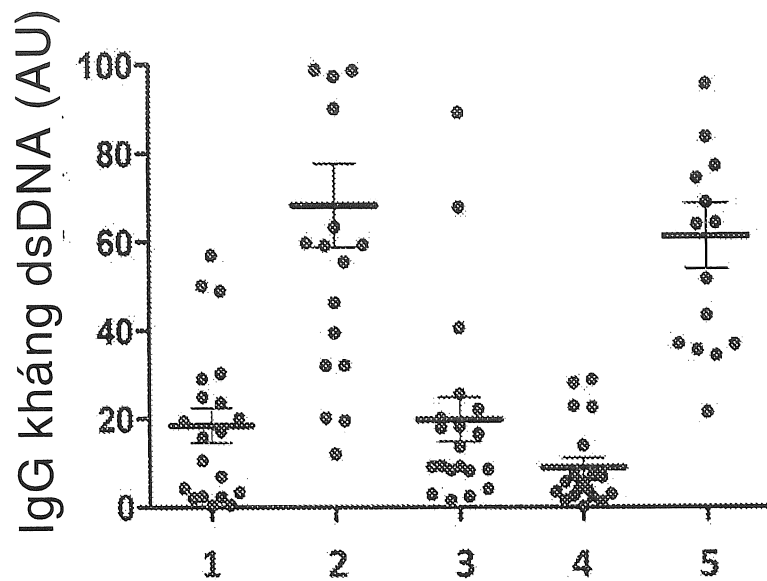


Hình 7

8/11

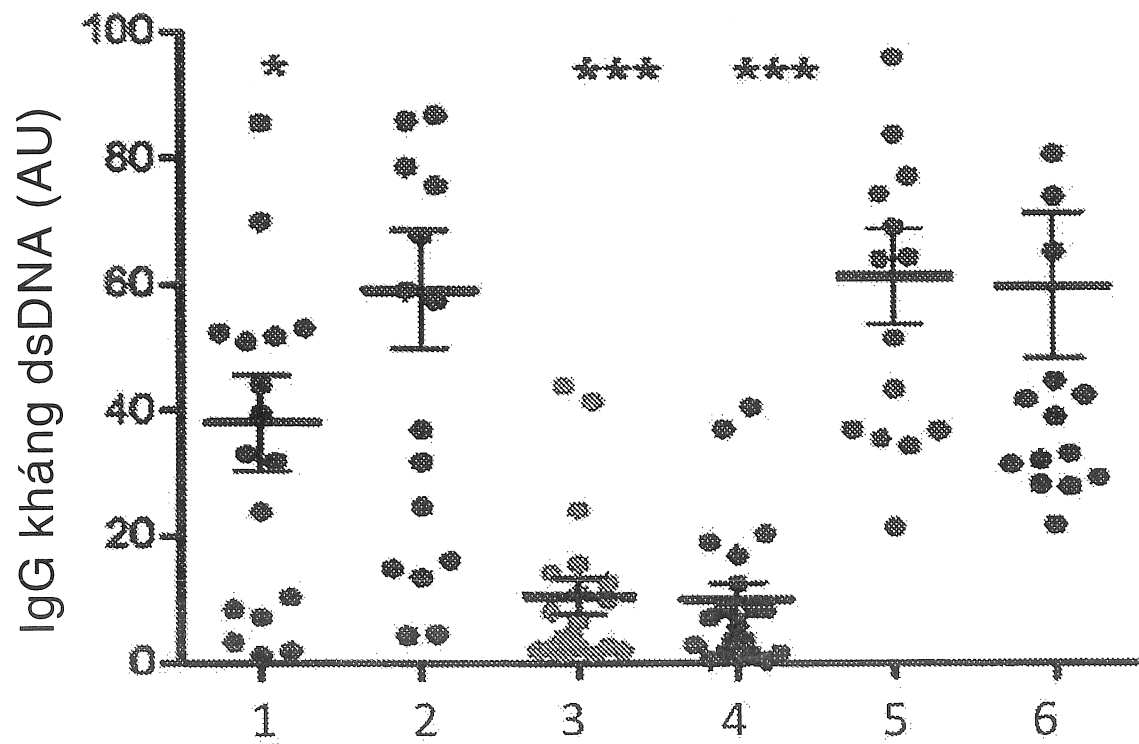


Hình 8A

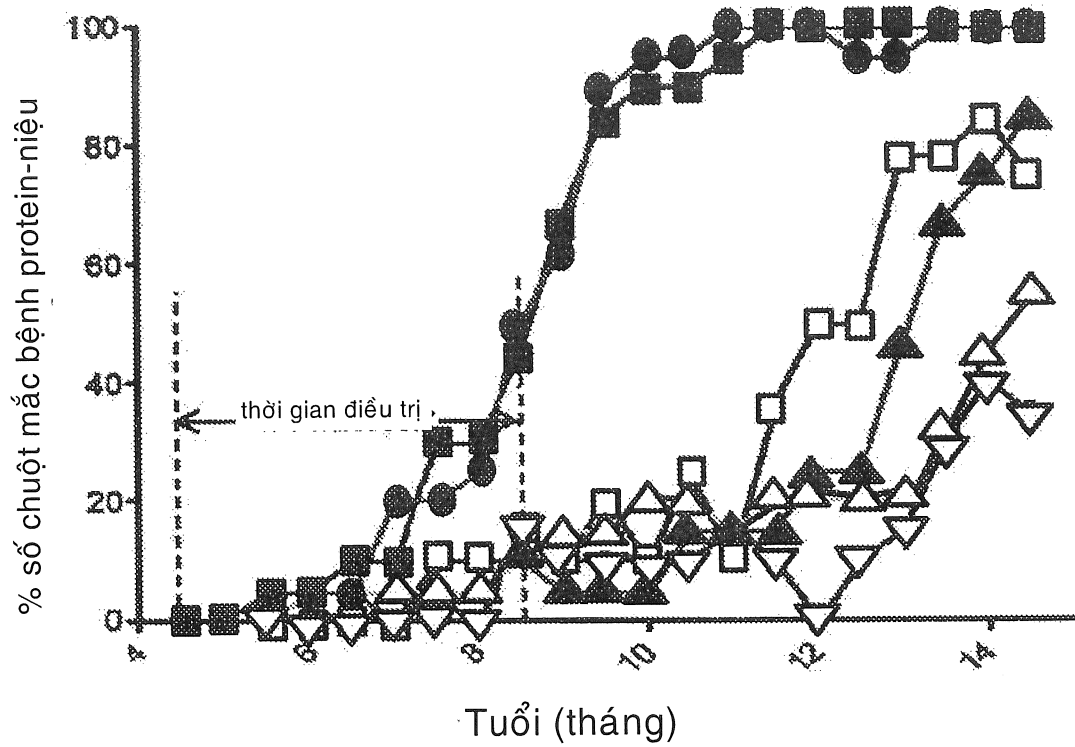


Hình 8B

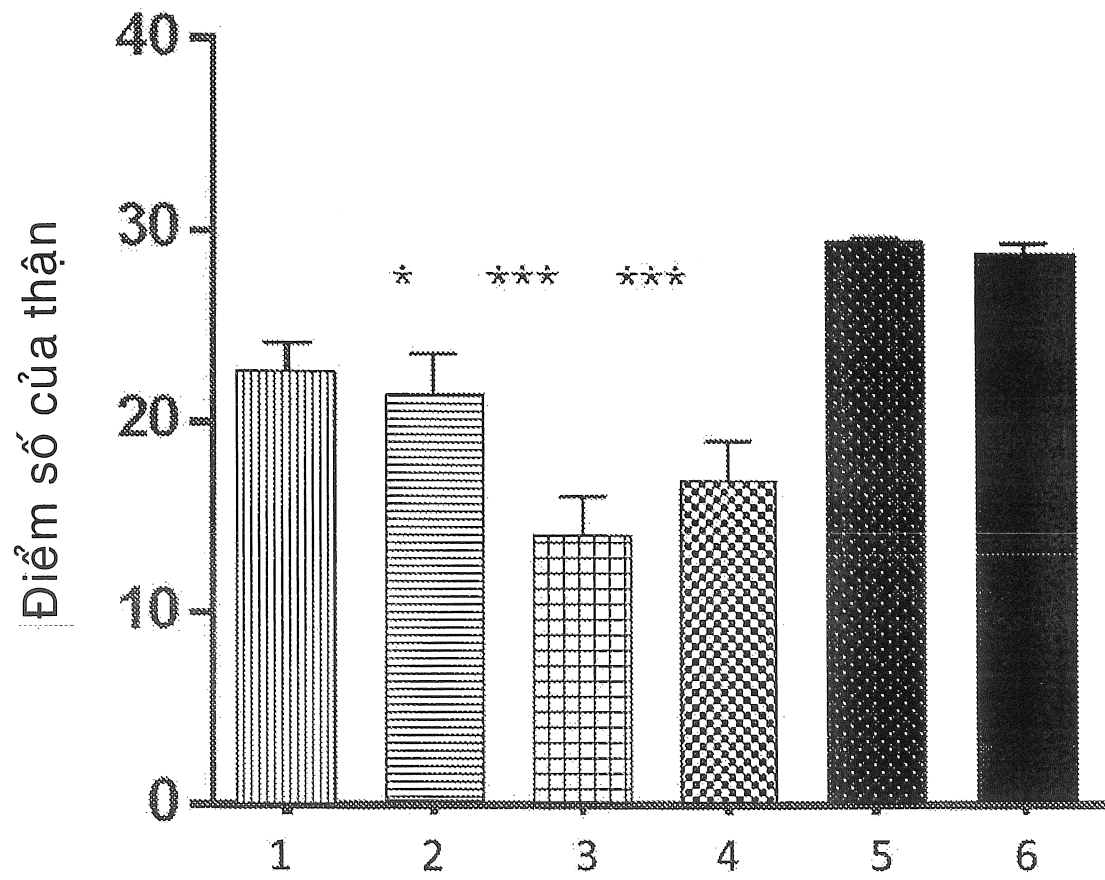
9/11



Hình 9A

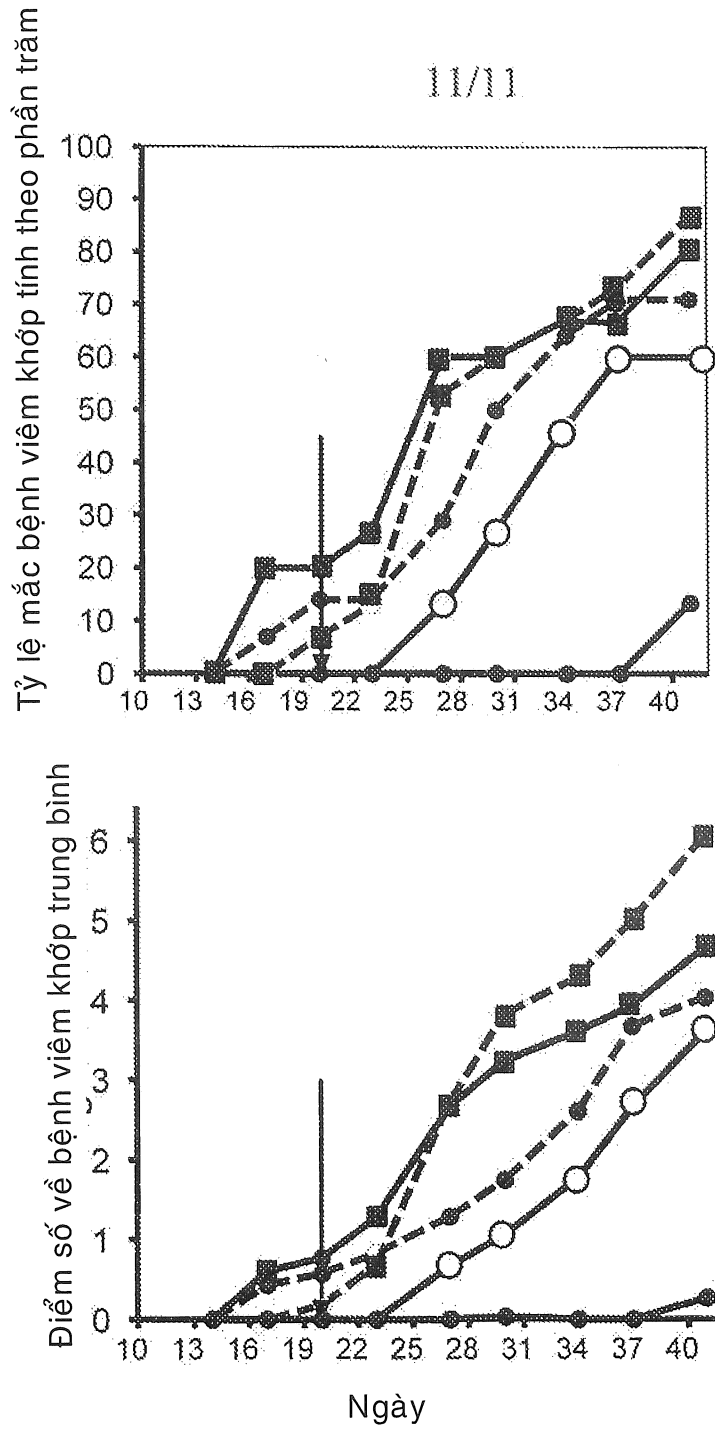


Hình 9B



Hình 10

11/11



Hình 11

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> HSU, HAILING
 ZHANG, MING
 KANNAN, GUNASEKARAN
 JACOBSEN, FREDERICK W.
 TSUJI, WAYNE

<120> PROTEIN ĐẶC HIỆU ĐỐI VỚI BAFF VÀ B7RP1 VÀ SỬ DỤNG

<130> A-1887-WO-PCT

<140> --sẽ được cấp--

<141> 2014-03-12

<150> 61/942,776

<151> 2014-02-21

<150> 61/780,260

<151> 2013-03-13

<160> 72

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 18

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 1

Leu	Pro	Gly	Cys	Lys	Trp	Asp	Leu	Leu	Ile	Lys	Gln	Trp	Val	Cys	Asp
1				5					10					15	

Pro Leu

<210> 2

<211> 18

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 2

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His

1

5

10

15

Gly Leu

<210> 3
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<220>
 <221> biến thể
 <222> (3)..(3)
 <223> /thay thế="Tyr" hoặc "Phe"

<220>
 <221> GỐC ĐƯỢC CẢI BIẾN
 <222> (5)..(5)
 <223> Axit amin bất kỳ

<220>
 <221> biến thể
 <222> (7)..(7)
 <223> /thay thế="Ile"

<220>
 <221> biến thể
 <222> (8)..(8)
 <223> /thay thế="Arg" hoặc "His"

<220>
 <221> biến thể
 <222> (10)..(10)
 <223> /thay thế="Arg" hoặc "His" hoặc "Ala" hoặc "Val" hoặc "Leu" hoặc "Ile" hoặc "Pro" hoặc "Phe" hoặc "Trp" hoặc "Met"

<220>
 <221> đặc tính pha tạp
 <222> (1)..(12)
 <223> /lưu ý="Các gốc biến thể được đưa ra ở trình tự này không có ưu tiên gì hơn so với các gốc biến thể ở các phần chú thích của các vị trí biến thể"

<400> 3
 Cys Lys Trp Asp Xaa Leu Thr Lys Gln Lys Val Cys
 1 5 10

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

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 4
 Gly Gly Gly Gly
 1

<210> 5
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<220>
 <221> biến thể
 <222> (12)..(12)
 <223> /thay thế="Val"

<220>
 <221> đặc tính pha tạp
 <222> (1)..(23)
 <223> /lưu ý="Các gốc biến thể được đưa ra ở trình tự này không có ưu tiên gì so với các gốc biến đổi ở các phần chú thích của các vị trí biến thể"

<400> 5
 Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Ser Ala Ser Ser Gly
 1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Leu
 20

<210> 6
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn

<223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 6

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Val Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Leu
20

<210> 7

<211> 23

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 7

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Ser Ala Ser Ser Gly
1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Leu
20

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 8

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 9

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1

5

<210> 10
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 10
 Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg Thr
 1 5

<210> 11
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 11
 Ser Tyr Trp Met Ser
 1 5

<210> 12
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 12
 Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 13
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 13

Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe
 1 5 10

<210> 14

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 14

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 15

<211> 121

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 15

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 16

<211> 509

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 16

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

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

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
 435 440 445

Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val
 450 455 460

Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Gly

465

470

475

480

Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser Leu Pro Gly Cys Lys
 485 490 495

Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
 500 505

<210> 17

<211> 511

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 17

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly
 435 440 445

Gly Gly Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln
 450 455 460

Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly
 465 470 475 480

Ser Val Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Leu Leu Pro Gly
 485 490 495

Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
 500 505 510

<210> 18

<211> 511

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 18

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val

225		230		235		240									
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
				245				250						255	
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
			260					265					270		
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
		275					280					285			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser
	290					295					300				
Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
305					310					315					320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
				325					330					335	
Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
			340					345					350		
Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
		355					360					365			
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
	370					375					380				
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser
385					390					395					400
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
				405					410					415	
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
			420					425					430		
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly
		435					440					445			

Gly Gly Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln
 450 455 460

Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly
 465 470 475 480

Ser Ser Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Leu Leu Pro Gly
 485 490 495

Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
 500 505 510

<210> 19
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 19
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 20
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<220>
 <221> GỐC ĐƯỢC CẢI BIẾN
 <222> (2)..(9)
 <223> Axit amin bất kỳ

<400> 20
 Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

<210> 21
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 21
 Leu Glu Trp Ile Gly
 1 5

<210> 22
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<220>
 <221> GỐC ĐƯỢC CẢI BIẾN
 <222> (3)..(3)
 <223> Axit amin bất kỳ

<400> 22
 Trp Gly Xaa Gly
 1

<210> 23
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<220>
 <221> GỐC ĐƯỢC CẢI BIẾN
 <222> (3)..(3)
 <223> Axit amin bất kỳ

<400> 23
 Phe Gly Xaa Gly
 1

<210> 24
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: tổng hợp peptit"

<400> 24

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ala Ser Ser Gly
 1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser
 20

<210> 25

<211> 447

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 25

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

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

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 26

<211> 508

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 26

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ala Ser
 20 25 30

Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp
 35 40 45

Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Glu Val Gln
 50 55 60

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
65 70 75 80

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Ser
85 90 95

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile
100 105 110

Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
115 120 125

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met
130 135 140

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu
145 150 155 160

Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly Gln Gly Thr
165 170 175

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
180 185 190

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
195 200 205

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
210 215 220

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
225 230 235 240

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
245 250 255

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

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys
275 280 285

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 290 295 300

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 305 310 315 320

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
 325 330 335

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 340 345 350

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 355 360 365

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 370 375 380

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
 385 390 395 400

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 405 410 415

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 420 425 430

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 435 440 445

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 450 455 460

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 465 470 475 480

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 485 490 495

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500 505

<210> 27

<211> 275

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 27

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ala Ser
20 25 30

Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp
35 40 45

Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Asp Ile Gln
50 55 60

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
65 70 75 80

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala Trp
85 90 95

Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ala Ala
100 105 110

Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
115 120 125

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
130 135 140

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly
145 150 155 160

Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val
 165 170 175

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
 180 185 190

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
 195 200 205

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

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
 225 230 235 240

Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
 245 250 255

Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
 260 265 270

Gly Glu Cys
 275

<210> 28
 <211> 511
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 28
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

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

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly
 435 440 445

Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val
 450 455 460

Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 465 470 475 480

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Pro Gly
 485 490 495

Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
 500 505 510

<210> 29
 <211> 510
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 29
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

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

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu
 355 360 365

Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr
 370 375 380

Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly
 385 390 395 400

Ser Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 405 410 415

Asp Pro Leu Gly Gly Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 420 425 430

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 435 440 445

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
 450 455 460

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 465 470 475 480

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 485 490 495

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 500 505 510

<210> 30

<211> 490

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 30

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

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

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu
355 360 365

Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Thr Lys Asn Gln
370 375 380

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
385 390 395 400

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
405 410 415

Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
420 425 430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu
 465 470 475 480

Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
 485 490

<210> 31
 <211> 491
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 31
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Gly Gly Leu Pro
260 265 270

Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
275 280 285

Gly Gly Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
290 295 300

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
305 310 315 320

Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu
325 330 335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala
340 345 350

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 355 360 365

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Gly Gly Leu Pro
 370 375 380

Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu
 385 390 395 400

Gly Gly Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 405 410 415

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 420 425 430

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 435 440 445

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 450 455 460

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 465 470 475 480

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 485 490

<210> 32
 <211> 293
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 32
 Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala
 20 25 30

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp
 35 40 45

Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly
 50 55 60

Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 65 70 75 80

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 85 90 95

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 100 105 110

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 115 120 125

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 130 135 140

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 145 150 155 160

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 165 170 175

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 180 185 190

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

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 210 215 220

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 225 230 235 240

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 245 250 255

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 260 265 270

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 275 280 285

Leu Ser Pro Gly Lys
 290

<210> 33
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 33
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230

<210> 34
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 1 5 10 15

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 20 25 30

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

His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Met Glu
 50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 65 70 75 80

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
 85 90 95

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

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 115 120 125

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 165 170 175

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

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

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

Ser Pro Gly Lys
 225

<210> 35
 <211> 279
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 35
 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
 1 5 10 15

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
 20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu
 35 40 45

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala Pro
 50 55 60

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 65 70 75 80

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 85 90 95

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr Val Asp
 100 105 110

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 115 120 125

Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 130 135 140

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 145 150 155 160

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg
 165 170 175

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 180 185 190

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 195 200 205

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asn
 210 215 220

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 225 230 235 240

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile Phe Ser
 245 250 255

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser
 260 265 270

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 275

<210> 36
 <211> 229
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 36
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 20 25 30

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

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 100 105 110

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

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

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 180 185 190

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

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

Leu Ser Leu Gly Lys
 225

<210> 37
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 37
 Gly Gly Gly Ser
 1

<210> 38
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 38
 Gly Gly Gly Pro
 1

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

<220>

<221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 39
 Gly Gly Gly Gln
 1

<210> 40
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 40
 Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5

<210> 41
 <211> 54
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 41
 ctgccggggtt gtaaattggga cctgctgatac aaacagtggg tttgtgaccc gctg
 54

<210> 42
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 42
 ggtggtggtg gt
 12

<210> 43
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<220>
 <221> bazơ được cải biến
 <222> (36)..(36)
 <223> a, c, t, g, loại chưa biết hoặc loại khác

<400> 43
 ggatccggtt ctgctactgg tggttccggc tccdbngcaa gctctgggtc aggcagtgcg
 60

actcatctg
 69

<210> 44
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 44
 ggatccggtt ctgctactgg tggttccggc tccgtcgcaa gctctgggtc aggcagtgcg
 60

actcatctg
 69

<210> 45
 <211> 69
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 45
 ggatccggtt ctgctactgg tggttccggc tcctcggcaa gctctgggtc aggcagtgcg
 60

actcatctg
 69

<210> 46

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

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 46
 cgggcgagtc aggggtattag caactgggta gcc
 33

<210> 47
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 47
 gctgcatcca gtttgcaaag t
 21

<210> 48
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 48
 caacagtatg atagttaccc tcggacg
 27

<210> 49
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 49
 agttattgga tgagt
 15

<210> 50
 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 50
 tacataaagc aagatggaaa tgagaaatac tatgtggact ctgtgaaggg c
 51

<210> 51
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 51
 gaagggatac tttgggttcgg ggacttaccg acgttc
 36

<210> 52
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 52
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc
 60

atcacttgtc gggcgagtca ggggtattagc aactgggttag cctgggtatca gcagaaacca
 120

gagaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca
 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct
 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tatgatagtt accctcggac gttcggccaa
 300

gggaccaagg tggaaatcaa acga
324

<210> 53
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 53
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct
120

ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat
180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattgtat
240

ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggaagg
300

atactttggt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct
360

agt
363

<210> 54
<211> 1527
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 54
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct
120

ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat
180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcatgtat
240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggaagg
300

atacttttgt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggc caccgtctct
360

agtgcctcca ccaagggccc atcgggtctc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc
420

gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg
480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc
540

tcaggactct actccctcag cagcgtggta acggtgccct cctcaaattt cgggacgcag
600

acatatacat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag
660

cggaagtgtt gcgtcgagtgc cccaccgtgt cccgctcctc cggtcgctgg cccatcagta
720

tttctcttcc ctcccaagcc aaaagataca ctcatgatct caagaacccc agaagtgact
780

tgtgtggctg tggacgtgtc gcatgaggat ccggaggtgc agtttaactg gtatgtggat
840

ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctcgacgttc
900

aggggtggtca gcgtgttgac agtagtccac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa
960

tgtaaggtct caaacaaggg gctcccggca cccattgaga agacaatttc caaaaccaag
1020

ggacagccca gggaacccca agtgtatacg ctgcccccaa gccgggagga aatgacgaaa
1080

aatcagggtca gcctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag
1140

tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tataagacca caccaccgat gctcgactcc
1200

gacggaagct tctttttgta ctcgaaactg acgggtggaca aatcgcgctg gcaacagggg
1260

aatgtcttta gctgctcggg catgcacgag gccctccaca atcattacac tcagaaaagc
1320

ttgtcgctct cgccgggtgg ggggtggagga ctgcccgggt gcaaattggga tctgttgatc
1380

aaacagtggg tatgcgaccc tttgggaagc ggctcggcga cgggtgggtc ggggtcgggt
1440

gcgtccagcg gatcgggctc ggccactggg tcaactccctg gatgcaagtg ggatcttctt
1500

atcaagcaat ggggtgtgcga tcccctc
1527

<210> 55
<211> 1533
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 55
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct
120

ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat
180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcatgtgat
240

ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggaaggg
300

atactttggt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct
360

agtgcctcca ccaagggcc atcgggtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc
420

gagagcacag cgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggtg
480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc
540

tcaggactct actccctcag cagcgtggta acggtgccct cctcaaattt cgggacgcag
600

acatacatat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag
660

cggaagtgtt gcgtcgagtgc cccaccgtgt cccgctcctc cggtcgctgg cccatcagta
720

tttctcttcc ctcccaagcc aaaagataca ctcatgatct caagaacccc agaagtgact
780

tgtgtggctgc tggacgtgtc gcatgaggat ccggaggtgc agtttaactg gtatgtggat
840

ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctcgacgttc
900

aggggtgtca gcgtgttgac agtagtcac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa
960

tgtaaggtct caaacaagc gctcccggca cccattgaga agacaatttc caaaaccaag
1020

ggacagccca gggaacccca agtgtatacg ctgcccccaa gccgggagga aatgacgaaa
1080

aatcaggtca gcctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag
1140

tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tataagacca caccaccgat gctcgactcc
1200

gacggaagct tctttttgta ctcgaaactg acggtggaca aatcgcgctg gcaacagggg
1260

aatgtcttta gctgctcggc catgcacgag gccctccaca atcattacac tcagaaaagc
1320

ttgtcgctct cgccgggtaa aggtgggtgt ggtggtctgc cgggttgtaa atgggacctg
1380

ctgatcaaac agtgggtttg tgacccgctg ggatccggtt ctgctactgg tggttccggc
1440

tccgtcgcaa gctctggttc aggcagtgcg actcatctgc tgccgggttg taaatgggac
1500

ctgctgatca aacagtgggt ttgtgacctg ctg
1533

<210> 56

<211> 1533

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

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

<400> 56

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct
120

ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat
180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcatgtgat
240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg
300

atactttgggt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctgggt caccgtctct
360

agtgcctcca ccaagggccc atcggctctc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc
420

gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg
480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc
540

tcaggactct actccctcag cagcgtggta acggtgccct cctcaaattt cgggacgcag
600

acatatacat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag
660

cggaagtgtt gcgtcgagtg cccaccgtgt cccgctcctc cggtcgctgg cccatcagta
720

tttctcttcc ctcccaagcc aaaagatata ctcatgatct caagaacccc agaagtgact
780

tgtgtggtcg tggacgtgtc gcatgaggat ccggaggtgc agtttaactg gtatgtggat
840

ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctcgacgttc
900

aggggtgggtca gcgtgttgac agtagtccac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa
960

tgtaaggtct caaacaaagg gctcccggca cccattgaga agacaatttc caaaaccaag
1020

ggacagccca gggaacccca agtgtatacg ctgcccccaa gccgggagga aatgacgaaa
1080

aatcaggtca gcctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag
1140

tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tataagacca caccaccgat gctcgactcc
1200

gacggaagct tctttttgta ctcgaaactg acggtggaca aatcgcgctg gcaacagggg
1260

aatgtcttta gctgctcggg catgcacgag gccctccaca atcattacac tcagaaaagc
1320

ttgtcgctct cgccgggtaa aggtgggtggg ggtgggtctgc cgggttgtaa atgggacctg
1380

ctgatcaaac agtggggttg tgaccgctg ggatccgggt ctgctactgg tggttccggc
1440

tcctcggaac gctctgggtc aggcagtgcg actcatctgc tgccggggtg taaatgggac
1500

ctgctgatca aacagtgggt ttgtgaccgc ctg
1533

<210> 57

<211> 642

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 57

gacatccaga tgaccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc
60

atcacttgctc gggcgagtca gggatttagc aactgggttag cctggtatca gcagaaacca
120

gagaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca
180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct
240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tatgatagtt accctcggac gttcggccaa
300

gggaccaagg tggaaatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcga
360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat
420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactccag
480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg
540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc
600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt
642

<210> 58
<211> 69
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Oligonucleotit tổng hợp"

<400> 58
ggaagcggct cggcgacggg tgggtcgggg tcgggtgcgt ccagcggatc gggctcggcc
60

actgggtca
69

<210> 59
<211> 1341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 59
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttgggtccagc ctgggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct
120

ccagggaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat
180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcatgtat
240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg
300

atacttttgt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggg caccgtctct
360

agtgcctcca ccaagggccc atcgggtctc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc
420

gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg
480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc
540

tcaggactct actccctcag cagcgtggta acggtgccct cctcaaattt cgggacgcag
600

acatacat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag
660

cggaagtgtt gcgtcgagtg cccaccgtgt cccgctcctc cggtcgctgg cccatcagta
720

tttctcttcc ctcccaagcc aaaagataca ctcatgatct caagaacccc agaagtgact
780

tgtgtggctg tggacgtgtc gcatgaggat ccggaggtgc agtttaactg gtatgtggat
840

ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctcgacgttc
900

aggggtggtca gcgtgttgac agtagtcac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa
960

tgtaaggctt caaacaaggg gctcccgga cccattgaga agacaatttc caaaaccaag
1020

ggacagccca ggaacccca agtgtatacg ctgccccca gccgggagga aatgacgaaa
1080

aatcagggtca gcctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag
1140

tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tataagacca caccaccgat gctcgactcc
1200

gacggaagct tctttttgta ctcgaaactg acggtggaca aatcgcgctg gcaacagggg
1260

aatgtcttta gctgctcggg catgcacgag gccctccaca atcattacac tcagaaaagc
1320

ttgtcgctct cgccgggtaa a
1341

<210> 60
<211> 1524
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 60
cttcccggat gcaagtggga tctgttgatc aagcaatggg tctgcgaccc tctcgggtca
60

gggtccgcga ccggtggatc ggggtcggga gcgtcatcgg gcagcggaag cgctacggga
120

tcacttcccg ggtgcaaag ggacctcctg atcaaacaat gggatatgtga tccgctcggg
180

ggcgaggtgc agctgggtga gtctggggga ggcttgggtcc agcctggggg gtccctgaga
240

ctctcctgtg cagcttctgg atttacctt agtagttatt ggatgagttg ggtccgccag
300

gctccaggga aagggtgga gtgggtggcc tacataaagc aagatggaaa tgagaaatac
360

tatgtggact ctgtgaagg ccgattcacc atctccagag acaacgcaa gaactcattg
420

tatctgcaaa tgaacagcct gagagccgag gacacggctg tgtattactg tgcgagggaa
480

gggatacttt ggttcgggga cttaccgacg ttctggggcc agggaaccct ggtcaccgtc
540

tctagtgcct ccaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg cgccctgctc caggagcacc
600

tccgagagca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg
660

gtgtcgtgga actcaggcgc tctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccagc tgtcctacag
720

tcttcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcaa cttcggcacc
780

cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagacagtt
840

gagcgcaaat gttgtgtcga gtgcccaccg tgcccagcac cacctgtggc aggaccgtca
900

gttttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac cctgaggtc
960

acgtgctggtg tgggtggacgt gagccacgaa gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg
1020

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg aggagcagtt caacagcacg
1080

ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgttgtg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac
1140

aagtgcaagg tctccaacaa aggctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaaacc
1200

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc
1260

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctgggtc aaaggcttct accccagcga catcgccgtg
1320

gagtgggaga gcaatgggca gccggagAAC aactacaaga ccacacctcc catgctggac
1380

tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag
1440

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cagcagaag
1500

agcctctccc tgtctccggg taaa
1524

<210> 61

<211> 825

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

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

<400> 61

ctccctgggt gcaaattggga cctgttgatt aagcagtggg tctgcgaccc tctcggatcg
60

ggaagcgcaa ctgggggttc aggctcaggg gctagctccg gatcggggtc ggccacaggg
120

tcgctccccg gatgtaagtg ggaccttttg attaaacagt ggggtgtgca tccacttgga
180

ggtgatatcc agatgacaca gtcaccctcg tcgttgagcg ccagcgtggg agatagagtg
240

acgatcacct gtcgagccag ccagggcac tccaactggc ttgctgtgga ccaacaaaag
300

cccgagaagg caccgaaatc gctgatctac gcggcgctcg cactgcagtc ggggtgtaccg
360

tcgcggttta gcgggtccg gtccggaacg gacttcacgc tcacgatttc ctcatcgag
420

ccggaagatt ttgcgactta ttactgtcag caatatgact catatccccg cacattcggt
480

caggaacca aggtcgagat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg
540

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc
600

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc
660

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg
720

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag
780

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt
825

<210> 62

<211> 1533

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

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

<400> 62

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttgggtccagc ctgggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct
120

ccagggaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat
180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattgtat
240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg
300

atactttggt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct
360

agtgcctcca ccaagggccc atcggctctc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc
420

gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg
480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc
540

tcaggactct actccctcag cagcgtggta acggtgccct cctcaaattt cgggacgcag
600

acatatacat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag
660

cggaagtgtt gcgtcgagtg cccaccgtgt cccgctcctc cggtcgctgg cccatcagta
720

tttctcttcc ctcccaagcc aaaagataca ctcatgatct caagaacccc agaagtgact
780

tgtgtgggtcg tggacgtgtc gcatgaggat ccggaggtgc agtttaactg gtatgtggat
840

ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctcgacgttc
900

aggggtgggtca gcgtgttgac agtagtccac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa
960

tgtaagggtct caaacaaggg gctcccggca cccattgaga agacaatttc caaaaccaag
1020

ggacagccca gggaacccca agtgtatacg ctgcccccaa gccgggagga aatgacgaaa
1080

aatcaggtca gcctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag
1140

tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tacaaaacga cccacctat gctcgattcg
1200

gacggcagct tctttttgta ttcaaagttg acagtggaca aatcgcgatg gcagcagggc
1260

aacgtcttct catgttcagt aatgcatgag gcccttcaca accactacac gcagaagtcc
1320

ctctcattgt cgccgggtgg ggggtggagga ctgcccgggt gcaagtggga cctcttgatc
1380

aaacagtggg tatgcgaccc ttggggaggg ggtgggtcag gagggggagg ttccggtgga
1440

ggtggttccg ggggaggcgg atcaggaggt ggaggatcgt tgcccggctg taagtgggat
1500

ctgctgatca agcagtgggt ctgtgatcct ttg
1533

<210> 63

<211> 1530

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 63

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct
120

ccagggaaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat
180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcatgtgat
240

ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggaagg
300

atacttttggg tcgggggactt accgacgttc tgggggccagg gaaccctggg caccgtctct
360

agtgcctcca ccaagggccc atcgggtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc
420

gagagcacag cgggcctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg
480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc
540

tcaggactct actccctcag cagcgtgggtg accgtgccct ccagcaactt cggcacccag
600

acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag
660

cgcaaatgtt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc
720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg
780

tgctgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggac
840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc
900

cgtgtgggtca gcgtcctcac cgttgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag
960

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaaaccaa
1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccacctt cgcgggagga aatgggagga
1080

ctccccgggt gcaagtggga tcttcttata aaacagtggg tatgcgaccc gctgggggtca
1140

gggtcagcga caggtggatc gggtagcggc gcatcgagcg gatcagggtc cgcgacgggc
1200

tcacttcccc gatgcaaata ggacctcttg attaagcagt ggggtgtgtga cccgttgggt
1260

ggaacgaaga atcaggtctc gttgacgtgt ctggtgaagg ggttttatcc ctcgatatc
1320

gctgtcgagt gggagtcgaa tggacagccc gaaaacaact acaagaccac cccgcctatg
1380

ctggactccg atggttcctt ctttttgtac tcgaaactga ctgtggataa gagcaggtgg
1440

cagcaaggga atgtattctc gtgttccgtc atgcacgaag ccctccataa ccactataca
1500

caaaaatcgc tttcacttag cccgggaaaa
1530

<210> 64
<211> 1470
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 64
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc
60

tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct
120

ccagggaaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat
180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattgtat
240

ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaggggaaggg
300

atactttggg tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggg caccgtctct
360

agtgcctcca ccaagggcc atcgggtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc
420

gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg
480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc
540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcaactt cggcacccag
600

acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag
660

cgcaaagtgt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc
720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg
780

tgcggtggtg tggacgtgag ccacgaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggac
840

ggcggtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc
900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgttgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag
960

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaaaccaa
1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccgccct cgagagaaga gatgggcggg
1080

ttgccgggggt gtaagtggga cttgctgatt aaacaatggg tgtgcgaccc tctgggcggg
1140

accaagaatc aggtctcact gacatgtctc gtaaaagggt tttaccgctc agatatcgcg
1200

gtcgagtggg aatccaacgg acaacccgag aataactaca agacgactcc cccaatgctc
1260

gattcggtatg gatccttctt cctttatagc aaacttacag tagacaaatc acggtggcag
1320

caggggaacg tgtttagctg ttcggtgatg cacgaagcct tgcataatca ctatacgcag
1380

aagtcgcttt ccctgtcgcc gggaggggga ggtgggctcc ctggatgcaa gtgggatctt
1440

ttgatcaagc agtgggtctg cgaccccctc
1470

<210> 65

<211> 1473

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 65

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggc cctgagactc
 60
 tctctgtcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct
 120
 ccaggaaaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat
 180
 gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcatgtat
 240
 ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg
 300
 atactttggt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct
 360
 agtgcctcca ccaagggccc atcgggtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc
 420
 gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg
 480
 tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc
 540
 tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcaactt cggcaccacg
 600
 acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag
 660
 cgcaaagtgt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc
 720
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg
 780
 tgcgtggtgg tggatgtaag ccatggggga ctgcctggat gcaagtggga tcttctcatt
 840
 aagcaatggg tctgtgacct tttgggcgga gaggaccgga aagtccagtt caactggtac
 900
 gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccac gggaggagca gttcaacagc
 960
 acgttccgtg tggtcagcgt cctcaccgtt gtgcaccagg actggctgaa cggcaaggag
 1020
 tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccagccccc tgcagaaaac catctccaaa
 1080

accaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc cgccctcgag agaagagatg
1140

ggcgggttgc cggggtgtaa gtgggacttg ctgattaaac aatgggtgtg cgaccctctg
1200

ggcggtagca agaatcaggt ctactgaca tgtctcgtaa aaggttttta cccgtcagat
1260

atcgcggtcg agtgggaatc caacggacaa cccgagaata actacaagac gactccccca
1320

atgctcgatt cggatggatc cttcttcctt tatagcaaac ttacagtaga caaatcacgg
1380

tggcagcagg ggaacgtgtt tagctgttcg gtgatgcacg aagccttgca taatcactat
1440

acgcagaagt cgctttccct gtctccgggt aaa
1473

<210> 66

<211> 879

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /luu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Polynucleotit tổng hợp"

<400> 66

atgcttccag gttgtaaag ggatcttctt attaaacaat gggtttgtga tccacttggt
60

tctggttctg ctactgggtg ttccggctcc accgcaagct ctggttcagg ttctgctact
120

catatgctgc cgggttgtaa atgggacctg ctgatcaaac agtgggtttg tgaccgctg
180

ggtggaggcg gtggggtcga caaaactcac acatgtccac cttgtccagc tccggaactc
240

ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc
300

cggacccttg aggtcacatg cgtgggtgtg gacgtgagcc acgaagacct tgagggtcaag
360

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag
420

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcttcaccg tcctgcacca ggactggctg
480

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa
540

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc
600

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctatccc
660

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg
720

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag
780

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaa
840

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaa
879

<210> 67

<211> 696

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 67

gagcccaaatt cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccagcacc tgaactcctg
60

gggggaccgt cagtcttcct cttcccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg
120

acccttgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc
180

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag
240

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat
300

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc
360

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg
420

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc
480

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct
540

cccgtgctgg actccgacgg ctctttcttc ctctatagca agctcaccgt ggacaagagc
600

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac
660

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa
696

<210> 68

<211> 684

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 68

gagcgcaaat gttgtgtcga gtgcccaccg tgcccagcac cacctgtggc aggaccgtca
60

gtcttctctt tcccccaaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc
120

acgtgcgtgg tggtgacgt gagccacgaa gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg
180

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg aggagcagtt caacagcacg
240

ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgttggtg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac
300

aagtgcagg tctccaacaa aggcctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaaacc
360

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc
420

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct accccagcga catcgccgtg
480

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacacctcc catgctggac
540

tccgacggct ctttcttctt ctacagcaag ctaccctggg acaagagcag gtggcagcag
600

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag
660

agcctctccc tgtctccggg taaa
684

<210> 69
<211> 837
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 69
gagctcaaaa cccacttgg tgacacaact cacacatgcc cacggtgccc agagcccaa
60

tcttgtgaca cacctcccc gtgcccacgg tgcccagagc ccaaattctg tgacacacct
120

ccccgtgcc cacggtgccc agagcccaa tcttgtgaca cacctcccc atgcccacgg
180

tgcccagcac ctgaactcct gggaggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag
240

gataccctta tgatttcccg gaccctgag gtcacgtgcg tggtggtgga cgtgagccac
300

gaagaccccg aggtccagtt caagtggtag gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa
360

acaaagccgc gggaggagca gttcaacagc acgttccgtg tggtcagcgt cctcacgcgc
420

ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc
480

ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa accaaaggac agccccgaga accacaggtg
540

tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg
600

gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcagcgg gcagccggag
660

aacaactaca acaccacgcc tcccatgctg gactccgacg gctccttctt cctctacagc
720

aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaaca tcttctcatg ctccgtgatg
780

catgaggctc tgcacaaccg cttcacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa
837

<210> 70

<211> 687

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 70

gagtccaaat atgggtccccc atgcccata tgcccagcac ctgagttcct ggggggacca
60

tcagtcttcc tgttcccccc aaaacccaag gacactctca tgatctcccg gaccctgag
120

gtcacgtgcg tgggtggtgga cgtgagccag gaagaccccg aggtccagtt caactggtag
180

gtggatggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccgc gggaggagca gttcaacagc
240

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcacgctc ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag
300

tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccgtcctcca tcgagaaaac catctccaaa
360

gccaaagggc agccccgaga gccacaggtg tacaccctgc ccccatccca ggaggagatg
420

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc
480

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg
540

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aggctaaccg tggacaagag caggtggcag
600

gaggggaatg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacacag
660

aagagcctct ccctgtctct gggtaaa
687

<210> 71

<211> 25

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 71

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 72
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Phần mô tả về trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 72
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5