(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) **1-0036240**

(51)[7] **C07K 14/47**; C12N 15/62; A61K 38/00; C07K 14/00

(13) **B**

(21) 1-2017-03864
(22) 01/04/2016
(86) PCT/EP2016/057272 01/04/2016
(87) WO2016/156596 06/10/2016
(30) 15162511.8 02/04/2015 EP; 15162502.7 02/04/2015 EP
(45) 25/07/2023 424
(43) 26/11/2018 368A
(73) MOLECULAR PARTNERS AG (CH)
Wagistrasse 14, 8952 Zürich-Schlieren, Switzerland
(72) BAKKER, Talitha (NL); STUMPP, Michael T. (DE); BINZ, Hans Kaspar (CH); PHILLIPS, Douglas (GB); DOLADO, Ignacio (ES); FORRER, Patrik (CH); MERZ, Frieder W. (DE); SONDEREGGER, Ivo (CH); STEINER, Daniel (CH); GULOTTI-GEORGIEVA, Maya (CH); ABRAM SALIBA, Johan (FR).
(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ HA VIP (HAVIP CO., LTD.)

(54) PROTEIN LIÊN KẾT TÁI TỔ HỢP, AXIT NUCLEIC MÃ HÓA TRÌNH TỰ AXIT AMIN CỦA PROTEIN LIÊN KẾT TÁI TỔ HỢP VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA PROTEIN NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, cũng như các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với yếu tố tăng trưởng tế bào gan (HGF), ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF-A), và ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, cũng như các axit nucleic mã hoá các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này và các protein liên kết tái tổ hợp, các dược phẩm bao gồm các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này, các protein liên kết tái tổ hợp hoặc các axit nucleic và ứng dụng của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này, các protein liên kết tái tổ hợp, các axit nucleic hoặc các dược phẩm trong điều trị bệnh tật.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến miền lặp lại ankyrin được thiết kế mới có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh biểu hiện các tính chất về độ ổn định trong bảo quản được cải thiện. Sáng chế cũng đề xuất các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, các protein này thể hiện các tính chất dược động học được cải thiện so với các protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Sáng chế cụ thể đề cập đến các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với yếu tố tăng trưởng tế bào gan (HGF), bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu A (VEGF-A), và bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Sáng chế còn đề xuất các axit nucleic mã hoá các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này và/hoặc các protein liên kết tái tổ hợp, các dược phẩm bao gồm các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này, các protein liên kết tái tổ hợp hoặc các axit nucleic, và việc sử dụng các miền lặp lại ankyrin được thiết kế, các protein liên kết tái tổ hợp, các axit nucleic, hoặc các dược phẩm này trong điều trị bệnh tật.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Phần mô tả tình trạng kỹ thuật của sáng chế dưới đây chỉ nhằm giúp người đọc hiểu được sáng chế và không nhằm mô tả hoặc cấu thành tình trạng kỹ thuật trước sáng chế.

Ngoài các kháng thể, có các protein liên kết hay miền liên kết mới có thể được sử dụng để liên kết đặc hiệu một phân tử đích (ví dụ, xem: Nat. Biotechnol. 23, 1257-1268, 2005 của Binz, H.K., Amstutz, P., Plückthun, A.). Một nhóm mới các protein liên kết hoặc miền liên kết này không có Fc là dựa trên các protein lặp lại được thiết kế hoặc các miền lặp lại được thiết kế, như các protein lặp lại ankyrin được thiết kế

hoặc các miền lặp lại ankyrin được thiết kế (WO 2002/020565; Nat. Biotechnol. *22*, 575-582, 2004 của Binz, H.K., Amstutz, P., Kohl, A., Stumpp, M.T., Briand, C., Forrer, P., Grütter, M.G., Plückthun, A.). WO 2002/020565 mô tả các thư viện lớn gồm các protein lặp lại, như các protein lặp lại ankyrin, có thể được xây dựng và ứng dụng chung của chúng. WO 2012/069654 mô tả các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. WO 2010/060748 mô tả các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGFA, và WO 2011/135067 mô tả các phiên bản được cải biến của các protein liên kết tái tổ hợp này đặc hiệu cho liên kết với VEGF-A. WO 2014/191574 mô tả các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF. Không có tài liệu nào trong số các đơn sáng chế này đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A và miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF.

Khác với, ví dụ các kháng thể IgG, thể hiện thời gian bán thải toàn thân kéo dài qua trung gian tái sử dụng FcRn, các protein bao gồm miền lặp lại ankyrin được thiết kế thường biểu hiện thanh thải dược động học rất nhanh và thời gian bán thải cuối cùng ngắn, trừ khi protein này bao gồm các yếu tố cải thiện các tính chất dược động học, như miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh được mô tả trong tài liệu: WO 2012/069654. Sử dụng khả năng liên kết albumin huyết thanh để cải thiện các tính chất dược động học của các protein là một quá trình đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, xem tài liệu: WO 9101743; "Therapeutic proteins: strategies to modulate their plasma halflives", Wiley-VCH Verlag GmbH, 2012, ISBN 978-3-527-32849-9 của Frejd F.Y., 2012 (trong Kontermann, R (Biên tập)); M.S. Protein Eng. Des. Sel. 19, 291-297, 2006 của Nguyen, A., Reyes, A.E.II., Zhang, M., McDonald, P., Wong, W.L., Damico, L.A., Dennis; WO 2008/096158; WO 2006/122787; WO 2011/095545; và WO 2012/069654). Để có thể sử dụng các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh trong thuốc thử lâm sàng, phải cải thiện được độ ổn định trong bảo quản của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Sáng chế đề cập đến các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh với các tính chất được cải thiện.

Tác động của hoá trị của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh lên các tính chất dược động học của các protein liên kết tái tổ hợp hiện chưa được nghiên cứu khảo sát. Dựa trên các khám phá về miền liên kết albumin (Protein Eng. Des. Sel. 23, 827-834, 2010 của Hopp, J., Horning, N., Zettlitz, K.A., Schwarz, A., Fuss, N., Müller, D., Kontermann, R.E.), chuyên gia trong lĩnh vực này sẽ cho là protein liên kết tái tổ hợp bao gồm hai miền liên kết protein như các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh sẽ không có các tính chất dược động học được cải thiện so với protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Bất ngờ là, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra là không phải như vậy. Do đó, sáng chế bộc lộ các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh mà thể hiện các tính chất dược động học được cải thiện (nghĩa là thời gian bán thải kéo dài, nồng độ trong máu gia tăng, thanh thải giảm đi, và/hoặc tỷ lệ liều dùng tiêm vào gia tăng) so với các protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh.

Quá trình tạo mạch mới (hình thành các mạch máu mới) đã biết là đóng vai trò quan trọng trong việc phát triển và duy trì của các khối u (Nature 438, 967-974, 2005 của Ferrera, N., và Kerbel, R.S.). Do đó, khả năng ức chế sự tạo mạch đã trở nên vấn đề nền tảng trong khoa ung thư lâm sàng hiện đại; đặc biệt là nhằm đích yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF) và các thụ thể của nó (Clin. Colorectal Cancer, Suppl. 2, 62-68, 2004 của Hurwitz, H.; Clin. Adv. Hematol. Oncol. 5, 530-531, 2007 của Escudier, B.). Họ VEGF của động vật có vú bao gồm năm glycoprotein được gọi là VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D (còn được gọi là FIGF) và yếu tố tăng trưởng nhau thai (PlGF, còn được gọi là PGF). VEGF-A đã chứng tỏ là đích có hiệu quả cho liệu pháp chống tạo mạch (Nat. Med. 17, 13591370, 2011 của Weis, S.M., và Cheresh, D.A.). Các phối tử VEGF-A liên kết với và hoạt hoá ba tyrosin kinaza thụ thể typ III cấu trúc tương tự nhau, gọi là VEGFR-1 (còn được gọi là FLT1), VEGFR-2 (còn được gọi là KDR) và VEGFR-3 (còn được gọi là FLT4). Một vài chất ức chế tạo mạch đã được cấp phép lưu hành cho đến nay cho thời gian sống sót kéo dài không có bệnh tiến triển (PFS) và/hoặc tỷ lệ sống sót nói chung ở nhiều loại bệnh

ung thư khi kết hợp với hoá trị liệu. Đáng tiếc là, tính kháng thuốc không tránh khỏi xuất hiện trong quá trình điều trị bằng các chất ức chế VEGF/VEGFR, như chất ức chế VEGF-A bevacizumab (Avastin), điều này gợi ý là ức chế đồng thời các đích bổ sung và các con đường kháng thuốc có thể sẽ là cần thiết để đạt được các kết quả ưu việt trên lâm sàng (N. Engl. J. Med. 358, 20392049, 2008 của Kerbel, R.S.; Hurwitz, 2004, đã viện dẫn trong bản mô tả này; Escudier, 2007, đã viện dẫn trong bản mô tả này).

cMet tyrosin kinaza là một thụ thể bề mặt tế bào cho yếu tố tăng trưởng tế bào gan (HGF, còn gọi là yếu tố phân tán, SF) chủ yếu được biểu hiện trên các tế bào biểu mô (Nat. Rev. Drug Discov. 7, 504-516, 2008 của Comoglio, P.M., Giordano, S., và Trusolino, L.). Trong khi cMet và HGF được biểu hiện ở các mức thấp ở các mô bình thường của người trưởng thành, mức biểu hiện của chúng thường được điều tiết tăng ở nhiều loại khối u của người, mà cũng có tương quan trong các mô hình tiền lâm sàng với tỷ lệ sống sót, sự tăng trưởng, tạo mạch, xâm nhập và di căn của tế bào khối u (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 4731-4735, 1994 của Rong, S., Segal, S., Anver, M., Resau, J.H., Vande Woude, G.F.; Cancer Cell 6, 61-73, 2004 của Michieli, P., Mazzone, M., Basilico, C., Cavassa, S., Sottile, A., Naldini, L., Comoglio, P.M.). Đã phát hiện là điều tiết tăng biểu hiện và dẫn truyền tín hiệu của HGF và/hoặc cMet là có liên quan đến tiên lượng bệnh xấu và tính kháng thuốc ở nhiều loại khối u trên lâm sàng (Ann. Oncol. 24,14-20, 2013 của Fasolo, A., Sessa, C., Gianni, L., Broggini, M.). Các tài liệu này gộp lại cho thấy là trục HGF-cMet là đích quan trọng để can thiệp điều trị (Comoglio, 2008 đã viện dẫn trong bản mô tả này; Fasolo và các đồng tác giả, 2013, đã viện dẫn trong bản mô tả này). Thông qua liên kết với thụ thể của nó, HGF điều tiết một số các đáp ứng tế bào, bao gồm phân tán nhiều loại tế bào, tạo thành các ống dẫn và lumen, chuyển tiếp biểu mô-trung mô, tạo mạch, tái tạo gan, lành sẹo vết thương và phát triển mô học. Con đường tín hiệu HGF/c-Met cũng đã chứng tỏ là đóng vai trò quan trọng trong nhiều loại bệnh, bao gồm nhiều loại khối u rắn của người, trong đó con đường này tham gia vào quá trình phát triển, xâm nhập và di căn của khối u. Các chất ức chế con đường HGF/cMet hiện tại trong pha II hoặc III nghiên cứu trên lâm sàng bao gồm các kháng thể đơn dòng (mAb) nhằm đích miền ngoại bào của cMet (nghĩa là MetMab của Genentech-Roche) các chất ức chế phân tử nhỏ miền kinaza nội bào của chúng. Các chất ức chế phân tử nhỏ như tivantinib

(ArQule®) và cabozantinib (Cometriq) là có tác dụng mạnh nhưng kém đặc hiệu hơn so với các mAb và có khả năng có độc tính hơn. Các tác nhân sinh học kháng lại HGF/SF bao gồm rilotumumab (AMG102), mAb được làm tương thích với người kháng lại HGF, và ficlatuzumab (AV-299), IgG1 kháng-HGF được làm tương thích với người. Việc sử dụng các chất ức chế GF/cMet kết hợp với các chất nhằm đích khác là lĩnh vực đang được nghiên cứu tích cực nhằm ức chế đồng thời nhiều con đường phát tín hiệu khác nhau mà có chức năng khối u quá mức hoặc hiệp đồng. HGF/cMet khơi mào các tín hiệu tạo mạch mạnh mà có tác dụng hiệp đồng với VEGF gây cảm ứng tạo mạch máu mới của khối u và có thể gây cảm ứng tính kháng với các liệu pháp chống tạo mạch như Avastin® và Sutent® (sunitinib) tương ứng trong u nguyên bào xốp (Clin. Cancer Res. 19, 1773-1783, 2013 của Jahangiri, A., De Lay, M., Miller, L.M., Carbonell, W.S., Hu, Y.L., Lu, K., Tom, M.W., Paquette, J., Tokuyasu, T.A., Tsao, S., Marshall, R., Perry, A., Bjorgan, K.M., Chaumeil, M.M., Ronen, S.M., Bergers, G., Aghi, M.K.) và ung thư tế bào thận.

Hiện có một số hợp chất kháng-HGF/cMet đang được nghiên cứu kết hợp với các chất nhằm đích khác như các chất ức chế thụ thể kháng-VEGF, các chất này đã chứng tỏ có profin tính an toàn thuận lợi ở nhiều loại khối u (Curr. Cancer Drug Targets. 11, 624-653, 2011 của Sharma, P.S., Sharma, R., Tyagi, T.). Tuy nhiên, liệu pháp phối hợp này ngụ ý là bệnh nhân cần phải tiếp nhận hai thuốc điều trị riêng rẽ, mỗi thuốc có profin tính an toàn khác biệt, có thể dẫn đến các độc tính không mong muốn gia tăng, do đó có thể hạn chế các phương án điều trị. Hơn nữa, các thuốc điều trị khác nhau có thể cần các phác đồ sử dụng khác nhau, mà có thể dẫn đến phác đồ liều dùng gây phiền toái cho bệnh nhân. Cuối cùng, nhưng không kém phần quan trọng là, phác đồ liều dùng của nhiều thuốc đồng thời có thể gia tăng đáng kể chi phí điều trị và chăm sóc cho bệnh nhân.

Một thuốc có bán sẵn trên thị trường có hoạt tính ức chế kép cMet và VEGF là cabozantinib (Cometriq; thuốc phân tử nhỏ), là một chất ức chế tyrosin kinaza đađặc hiệu, dùng qua đường miệng, nhằm đích cMet và VEGFR 1-3 (ngoài RET, KIT, AXL và FLT3). Cabozantinib có phương pháp điều trị trên lâm sàng đã được kiểm định là ức chế đồng thời HGF và VEGF ở các khối u bằng một thuốc duy nhất (Mol. Cancer Ther. 10, 2298-2308, 2011 của Yakes, F.M., Chen, J., Tan, J., Yamaguchi, K., Shi, Y., Yu, P., Qian, F., Chu, F., Bentzien, F., Cancilla, B., Orf, J.,

You, A., Laird, A.D., Engst, S., Lee, L., Lesch, J., Chou, Y.C., Joly, A.H.; Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 22, 1023-1038, 2008 của Castellone, M.D., Carlomagno, F., Salvatore, G., Santoro, M.). Ví dụ, trong bệnh ung thư tiền liệt tuyến kháng lại việc cắt bỏ khối u, một trường hợp chỉ định trong đó mAb rilotumumab kháng-HGF không chứng tỏ là có hiệu quả làm thuốc duy nhất trong các nghiên cứu pha II, cabozantinib đã chứng tỏ có hoạt tính kháng khối u ở tỷ lệ % cao các bệnh nhân trong pha II (J. Clin. Oncol. 31, 412-419, 2013 của Smith, D.C., Smith, M.R., Sweeney, C., Elfiky, A.A., Logothetis, C., Corn, P.G., Vogelzang, N.J., Small, E.J., Harzstark, A.L., Gordon, M.S., Vaishampayan, U.N., Haas, N.B., Spira, A.I., Lara, P.N. Jr., Lin, C.C., Srinivas, S., Sella, A., Schöffski, P., Scheffold, C., Weitzman, A.L., Hussain, M.). Tuy nhiên, hoạt tính này cũng tương ứng với tỷ lệ có tác dụng không mong muốn cao hơn dẫn đến giảm liều dùng ở 62% bệnh nhân, dấy lên nghi ngờ về tính an toàn và độ dung nạp của cơ chế tác dụng nhiều hướng này.

Nhằm đích đồng thời VEGF-A và HGF/cMet có thể một cách có lợi phá vỡ quá trình tạo mạch và tiến triển của khối u. Như đề cập ở trên, các liệu pháp hiện nay có tác dụng đồng thời lên các con đường VEGF-A/VEGFR-2 và HGF/cMet là dựa trên các thuốc điều trị đơn nhất mà có thể không đặc hiệu và dẫn đến vấn đề về tính an toàn, hoặc liên quan đến một vài thuốc điều trị đặc hiệu phải kết hợp với nhau, dẫn đến nhu cầu phải dùng đồng thời hoặc dùng nhiều lần. Hơn nữa, một vài thuốc hiện nay thể hiện thời gian bán thải toàn thân ngắn. Do đó, có nhu cầu cung cấp các thuốc được cải thiện ức chế các con đường VEGF-A/VEGFR-2 và HGF/cMet. Nhu cầu này về mặt kỹ thuật là khó đáp ứng với các thuốc kháng thể, mà còn gặp phải khó khăn về sản xuất ở các tế bào động vật có vú. Sáng chế đề xuất các protein liên kết tái tổ hợp mà giải quyết được các vấn đề này. Theo một vài phương án, protein liên kết tái tổ hợp được đề xuất trong bản mô tả này bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGFA, ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF, và, để cải thiện tính chất dược động học, ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến một miền lặp lại ankyrin được thiết kế mới có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO:

50, mà thể hiện độ ổn định trong bảo quản được cải thiện so với các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh lần lượt bao gồm SEQ ID NO: 50. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này có tính đặc hiệu liên kết với HGF, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh và bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50. Theo một phương án, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư này của protein liên kết tái tổ hợp nêu trên là theo thứ tự miền thứ nhất-miền thứ hai-miền thứ nhất-miền thứ tư từ đầu tận cùng-N đến đầu tận cùng-C. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này của protein liên kết tái tổ hợp nêu trên bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 21 và các trình tự axit amin trong đó tối đa đến 10 axit amin của từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 21 được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ, và miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này của protein liên kết tái tổ hợp nêu trên bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 37 và các trình tự axit amin trong đó tối đa đến 10 axit amin của trình tự từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 37 được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ, và các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này của protein liên kết tái tổ hợp nêu trên lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, và các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit bao gồm các trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9 và các trình tự axit amin trong đó tối đa đến 4 axit amin của trình tự từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9 được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này của protein liên kết tái tổ hợp nêu trên bao gồm các trình tự axit amin của SEQ ID NO: 18, và miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này của protein liên kết tái tổ hợp nêu trên bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 26, và các

miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này của protein liên kết tái tổ hợp nêu trên lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, và các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 9. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm một trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 90% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134. Theo một phương án được ưu tiên, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134.

Sáng chế còn đề cập đến một axit nucleic mã hoá trình tự axit amin của miền lặp lại ankyrin được thiết kế hoặc protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế.

Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa protein liên kết tái tổ hợp và/hoặc miền lặp lại ankyrin được thiết kế, axit nucleic của sáng chế, và tuỳ ý một chất mang và/hoặc chất pha loãng dược dụng.

Sáng chế đề cập đến việc sử dụng dược phẩm của sáng chế để điều trị bệnh. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến việc sử dụng dược phẩm của sáng chế để điều trị bệnh ung thư, bệnh ung thư dạ dày, hoặc bệnh ung thư thận.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1. Minh hoạ các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh.

(a) Minh hoạ miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Các ví dụ về các miền lặp lại ankyrinnày là các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm từ SEQ ID NO: 40 đến SEQ ID NO: 56, cụ thể là miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50. (b) Minh hoạ miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với một đích khác không phải là albumin huyết thanh. Các ví dụ về các miền lặp lại ankyrin này là các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 39. (c) Minh hoạ liên kết polypeptit (ví dụ polypeptit có trình tự axit amin tương ứng với trình tự bất kỳ trong số các trình tự từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9). (d) Minh

hoạ trình tự axit amin đầu tận cùng-N. Ví dụ về các trình tự axit amin đầu tận cùng-N này là các trình tự MGS hoặc GS, hoặc các nhãn polypeptit, minh hoạ bởi trình tự axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 1. (e) Minh hoạ hợp chất có hoạt tính sinh học. Hợp chất này ví dụ có thể là protein hoặc miền protein với hoạt tính ví dụ, chủ vận (ví dụ hormon, hoặc enzym), đối kháng (ví dụ miền thụ thể hoặc mảnh kháng thể), hoặc độc tố (ví dụ độc tố). Hợp chất này ví dụ có thể là hợp chất phân tử nhỏ biểu hiện hoạt tính ví dụ, chủ vận, đối kháng hoặc độc tính. (f) Minh hoạ protein liên kết tái tổ hợp được đề xuất trong bản mô tả này bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, và một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với một đích khác không phải là albumin huyết thanh, được liên kết bởi các liên kết polypeptit và có trình tự axit amin đầu tận cùng-N. Ví dụ, protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin tương ứng với trình tự bất kỳ trong số các trình tự của trình tự từ SEQ ID NO: 73 đến SEQ ID NO: 81 gồm có ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế này, trong đó SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 78, và SEQ ID NO: 80 có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh bên sườn miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba tương ứng như thể hiện trong hình vẽ minh hoạ. (g) Minh hoạ protein liên kết tái tổ hợp được đề xuất trong bản mô tả này bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, và hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết với các đích khác không phải là albumin huyết thanh, được liên kết bởi các liên kết polypeptit và có trình tự axit amin đầu tận cùng-N. Hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh là bên sườn hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại. Ví dụ, protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin tương ứng với trình tự bất kỳ trong số các trình tự từ SEQ ID NO: 95 đến SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 122, từ SEQ ID NO: 129 đến SEQ ID NO: 131, từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 144, từ SEQ ID NO: 149 đến SEQ ID NO: 172, và từ SEQ ID NO: 175 đến SEQ ID NO: 179, cụ thể là SEQ ID NO: 134 tương ứng với hình vẽ minh hoạ này. (h) Minh hoạ protein liên kết tái tổ hợp được đề xuất trong bản mô tả này bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, và hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết với các đích khác không phải là albumin huyết thanh, được liên kết bởi các liên kết polypeptit và có trình tự axit amin đầu tận cùng-N. Hai miền lặp lại

ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh là đầu tận cùngN đối với hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại. Ví dụ, protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin tương ứng với trình tự bất kỳ trong số các trình tự của SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 132, và SEQ ID NO: 133 tương ứng với hình vẽ minh hoạ này. (i) Minh hoạ dược chất bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh và hợp chất có hoạt tính sinh học. Hợp chất có hoạt tính sinh học có thể liên kết cộng hoá trị với hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh bằng cách ngẫu hợp hoá học hoặc trong trường hợp các polypeptit, dung hợp protein.

Fig. 2. Độ ổn định trong bảo quản được cải thiện của các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm SEQ ID NO: 50. Phân tích PAGE SDS 15% các protein #49 và #50 (tương ứng SEQ ID NO: 49 và SEQ ID NO: 50, có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng-N; được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4) được bảo quản ở nồng độ 10 mg/ml trong PBS trong 1 tuần lần lượt ở 4°C (1), 25°C (2), 40°C (3), và 60°C (4). M: Chất đánh dấu (vạch bên dưới: 6,5 kDa; vạch ở mức protein #50: 14,4 kDa; vạch bên trên trong trường hợp protein #50 PAGE: 21,5 kDa).

Fig. 3. Các nghiên cứu dược động học trên chuột nhắt minh hoạ lợi ích của việc có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế với tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh trong một protein liên kết tái tổ hợp. Các nghiên cứu dược động học trên chuột nhắt được tiến hành bằng cách sử dụng các protein được đánh dấu ^{m99}Tc như được mô tả trong Ví dụ 5. % liều dùng được tiêm (% ID), tham chiếu với thời điểm đo ban đầu (a: 4 giờ; b-d:1 giờ) được thể hiện theo thời gian (t; giờ). Các protein đã sử dụng bao gồm nhãn-His đầu tận cùng-N (SEQ ID NO: 1) ngoài trình tự được chỉ ra khác. (a) So sánh profin dược động học của protein #57 (một miền lặp lại ankyrin được thiết kế duy nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh; SEQ ID NO: 57, bao gồm SEQ ID NO: 51; ký hiệu hình tròn) với protein #62 và protein #63 (các protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (hai SEQ ID NO: 51), được liên kết bằng liên kết polypeptit-GS (SEQ ID NO: 63; ký hiệu hình thoi) hoặc liên kết polypeptit-giàu-PT (SEQ ID NO: 62; ký hiệu hình vuông). Có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh dẫn đến % ID cao hơn, ví dụ ở 24

giờ (+57% GS; +59% PT), 48 giờ (+76% GS; +82% PT) hoặc 72 giờ (+79% GS; +94% PT) sau khi tiêm, và dẫn đến thời gian bán thải được cải thiện (+38% GS; +48% PT) so với protein chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế duy nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. (b) So sánh profin dược động học của protein #64 (ký hiệu hình tròn), bao gồm SEQ ID NO: 22 (miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với một đích khác không phải là albumin huyết thanh) và SEQ ID NO: 51 (miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh), với protein #73 (ký hiệu hình vuông) và protein #74 (ký hiệu hình thoi), bao gồm lần lượt SEQ ID NO: 22 và hai SEQ ID NO: 51. Protein #73 có SEQ ID NO: 51 bên sườn SEQ ID NO: 22, và protein #74 có hai SEQ ID NO: 51 ở đầu tận cùng-N của SEQ ID NO: 22. Có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh dẫn đến % ID cao hơn ví dụ, ở 24 giờ (+62% đầu tận cùng-N; +89% bên sườn), hoặc 48 giờ(+136% đầu tận cùng-N; +175% bên sườn) sau khi tiêm, và dẫn đến thời gian bán thải được cải thiện (+>63% đối với cả đầu tận cùng-N hoặc bên sườn) so với protein chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế duy nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. (c) So sánh profin dược động học của protein #82 (ký hiệu hình tròn), bao gồm SEQ ID NO: 11 (hai lần; miền lặp lại ankyrin được thiết kế không có tính đặc hiệu liên kết đã biết) và SEQ ID NO: 51 (miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh), với protein #109 (ký hiệu hình vuông) bao gồm SEQ ID NO: 11 (hai lần) và SEQ ID NO: 51 (hai lần; đầu tận cùng-N). Có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh dẫn đến % ID cao hơn ví dụ, ở 24 giờ (+12%), hoặc 48 giờ (+35%) sau khi tiêm, và dẫn đến thời gian bán thải được cải thiện (+71%) so với protein chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế duy nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. (d) So sánh profin dược động học của protein #83 (ký hiệu hình tròn), bao gồm SEQ ID NO: 38 và SEQ ID NO: 39 (miền lặp lại ankyrin được thiết kế lần lượt có tính đặc hiệu liên kết đối với một đích khác không phải là albumin huyết thanh) và SEQ ID NO: 50 (miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh), với protein #110 (ký hiệu hình vuông), bao gồm lần lượt SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39 và SEQ ID NO: 50 (hai lần; bên sườn của SEQ ID NO: 38 và SEQ ID NO: 39). Có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh dẫn đến % ID cao hơn ví dụ, ở

24 giờ (+198%), 48 giờ (+198%), hoặc 72 giờ (+228%) sau khi tiêm, và dẫn đến thời gian bán thải được cải thiện (+19%) so với protein chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế duy nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Lưu ý đo nồng độ của protein #83 có giá trị gần với ngưỡng định lượng.

Fig. 4. Các nghiên cứu dược động học trên khỉ cynomolgus minh hoạ lợi ích của việc có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh trong protein liên kết tái tổ hợp. Các nghiên cứu dược động học trên khỉ cynomolgus được tiến hành như được mô tả trong Ví dụ 6. Nồng độ của protein tương ứng thể hiện theo nM (a), hoặc theo giá trị tương đối được quy chiếu với thời điểm đo ở 10 phút sau khi tiêm (b), theo thời gian tính theo ngày (a) hoặc giờ (b). Các protein đã sử dụng bao gồm nhãn-His ở đầu tận cùng-N (SEQ ID NO: 1) ngoài trình tự được đề cập khác. (a) So sánh profin dược động học của protein #57 (0,5 mg/Kg; 27,7 nmol/kg; một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh duy nhất; SEQ ID NO: 57, bao gồm SEQ ID NO: 51; ký hiệu hình tròn) với protein #62 (1,04 mg/Kg; 34,5 nmol/kg; protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (hai SEQ ID NO: 51), được liên kết bởi liên kết polypeptit giàu-PT). Có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh dẫn đến nồng độ trong máu cao hơn (2138 d*nmol/L so với 4676 d*nmol/L, nghĩa là +119% được tính đến ngày 7), dẫn đến thanh thải giảm đi (0,0108 L/(d*kg) so với 0,0031 L/(d*kg); nghĩa là -71%), và dẫn đến thời gian bán thải được cải thiện (4,57 ngày so với 9,00 ngày, nghĩa là +97% được tính từ ngày 1 đến ngày 7) so với protein chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh duy nhất. (b) thể hiện profin dược động học của protein #97 (protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 97; ký hiệu hình vuông) và protein #134 (protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134, không có nhãn trình tự bổ sung; ký hiệu hình tròn) được dùng tiêm tĩnh mạch ở liều 1 mg/kg cho khỉ cynomolgus. Protein #134 có profin dược động học được cải thiện so với protein #97.

Fig. 5. Sắc ký loại trừ kích cỡ kết hợp với tán xạ ánh sáng tĩnh một protein liên kết tái tổ hợp (protein #134) bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Tiến hành thử nghiệm như được mô tả trong Ví dụ 7 bằng cách sử dụng protein #134 (protein liên kết tái tổ hợp có trình tự

SEQ ID NO: 134; vạch liền), albumin huyết thanh của người (vạch chấm), và hỗn hợp của cả hai protein này (vạch đứt). Thử nghiệm này cho thấy protein #134 bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế (hai SEQ ID NO: 50) có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh có khả năng liên kết đồng thời hai phân tử albumin huyết thanh của người.

Fig. 6. phân tích *ELISA các protein liên kết tái tổ hợp*. Phân tích protein #134 (protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134) trong ELISA liên kết, như mô tả trong Ví dụ 10. Protein #134 bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A, một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF, và hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, tương ứng kỳ vọng có tương tác của protein #134 với các đích này. (a) ELISA VEGF-A. Tín hiệu liên kết của protein #134 ở nhiều nồng độ khác nhau với VEGF-A được cố định của người (ký hiệu hình tròn), chuột cống (ký hiệu hình vuông), và chuột nhắt (ký hiệu hình thoi), cũng như VEGF-C của người (ký hiệu hình tam giác ngược rỗng), và PDGF-AB của người (ký hiệu hình tròn rỗng), và các đường cong chuẩn độ ức chế làm thích hợp tương ứng được thể hiện. Protein #134 liên kết VEGF-A của các loài này với ái lực cao và không liên kết VEGF-C và PDGF-AB. (b) ELISA HGF. Tín hiệu liên kết của protein #134 ở các nồng độ khác nhau với HGF cố định của người (ký hiệu hình tròn), khỉ cynomolgus (hình tam giác đặc), và chuột (ký hiệu hình thoi), và các đường cong chuẩn độ ức chế làm thích hợp tương ứng được thể hiện. Protein #134 liên kết HGF của các loài này với ái lực cao. (c) ELISA albumin huyết thanh. Tín hiệu liên kết của protein #134 ở các nồng độ khác nhau với albumin huyết thanh cố định của người (ký hiệu hình tròn), khỉ cynomolgus (ký hiệu hình tam giác ngược rỗng), chuột cống (ký hiệu hình tam giác rỗng), chuột nhắt (ký hiệu hình vuông rỗngs), và chó (ký hiệu hình thoi rỗng) và và các đường cong chuẩn độ ức chế làm thích hợp tương ứng được thể hiện. Protein #134 liên kết albumin huyết thanh của các loài này với ái lực cao. OD, mật độ quang ở 450 nm OD ở 620 nm; c [pM], nồng độ của protein liên kết tái tổ hợp trong pM theo thang logarit.

Fig. 7. Các thử nghiệm cạnh tranh thụ thể VEGF-A/VEGF-R2 và HGF/cMet
Phân tích protein #134 (protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin của SEQ ID

NO: 134) trong nhiều thử nghiệm cạnh tranh như được mô tả trong Ví dụ 11. (a) thử nghiệm cạnh tranh liên kết VEGF-A/VEGFR-2 HTRF. Protein #134 ức chế tương tác của VEGF-A/VEGFR-2. Đường nền được chỉ ra bằng đường kẻ vạch đứt quãng, không có tín hiệu cạnh tranh được chỉ ra bằng ký hiệu hình tròn. R: tỷ lệ tín hiệu ở 665 nm so với tín hiệu ở 620 nm, c: nồng độ của protein #134 theo nM. (b) thử nghiệm liên kết cạnh tranh HGF/cMet. Protein #134 ức chế tương tác của HGF/cMet. OD: OD ở 450 nm - OD ở 620 nm, c: nồng độ của protein #134 theo nM. (c) ELISA liên kết cạnh tranh VEGF-A. Protein #134 liên kết VEGF-A với IC_{50} > 10 pM. OD: OD ở 450 nm - OD ở 620 nm, c: nồng độ của protein #134 theo pM.

Fig. 8. Phân tích SPR các protein liên kết tái tổ hợp. Phân tích liên kết của protein #134 (protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134) với VEGF-A, HGF, và HSA bằng cách sử dụng thiết bị ProteOn như được mô tả trong Ví dụ 12. HGF của người được cố định trên chíp cảm biến sinh học, và protein #134, VEGF-A của người, hoặc albumin huyết thanh của người được tiêm theo quy trình tiêm như sau: (1) protein #134 – hVEGF-A – HSA, (2) protein #134 – hVEGF-A – PBST, (3; đường kẻ chấm) protein #134 – PBST – HSA, (4) PBST – PBST – PBST, (5) PBST – hVEGF-A – PBST, (6) PBST – PBST – HSA. Các đường cong đồ thị 1 và 2 cho thấy là protein #134 có thể liên kết đồng thời HGF của người và VEGF-A của người. Hơn nữa, do liên kết VEGF-A đạt mức bão hoà ở đường cong 1, đường cong 1 cho thấy là protein #134 có thể liên kết đồng thời HGF của người, VEGF-A của người và albumin huyết thanh của người. Tiêm đối chứng cho thấy không có tương tác không đặc hiệu xảy ra. RU: đơn vị cộng hưởng; t: thời gian tính theo giây.

Fig. 9. Tác dụng của các protein liên kết tái tổ hợp lên tăng sinh tế bào và di chuyển tế bào. Tác dụng của protein #134 (protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134) trong các thử nghiệm tế bào khác nhau được đánh giá như được mô tả trong Ví dụ 13. (a) Ức chế tăng sinh của HUVEC do protein #134. Kích thích HUVEC (3 x 10^3tế bào/giếng) bằng 8 ng/mL VEGF-A của người. Phân tích trạng thái tăng sinh của các HUVEC khi không có (ký hiệu hình tròn rỗng) hoặc khi có protein #134 ở nồng độ tăng dần (ký hiệu hình tròn). Sau 3 ngày nuôi cấy ở 37°C và 5% CO_2, định lượng mức ức chế bằng cách cho thêm BrdU trong 24 giờ ủ cuối cùng. Protein #134 biểu hiện IC_{50} trong khoảng 100 - 150 pM. Các vạch chỉ sai số chỉ độ lệch chuẩn của các lần đo lặp lại độc lập. OD: OD ở 450 nm - OD ở 620

nm, c: nồng độ của protein #134 theo ng/ml. Trục X được thể hiện theo thang logarit. (b) Tác dụng của protein #134 trong thử nghiệm di chuyển tế bào Oris với các tế bào A549. Protein #134 ức chế đáng kể sự di chuyển tế bào do cảm ứngHGF. Tạo mầm các tế bào 24 giờ trước khi kích thích bằng HGF (500 pM; H và D) hoặc PBS (N), khi có mặt (D) và không có (H, N) protein #134 (5 μM). Loại bỏ nút đậy và phát hiện và định lượng di chuyển tế bào 48 giờ sau khi nhuộm màu các tế bào bằng Calcein. Chụp ảnh và diện tích không được bao phủ trong giếng đĩa nuôi cấy tế bào được xác định. U: diện tích không được bao phủ trong 8 giếng độc lập theo μm^2, H: HGF, không có protein #134, N: không có HGF, không có protein #134, D: HGF & protein #134. (c) Ức chế phosphoryl hoá cMet ở tế bào A549 bởi protein #134. Các tế bào A549 để đói qua đêm và kích thích bằng 1 nM HGF của người (không có HGF cho mẫu đối chứng âm tính) khi có mặt PBS hoặc protein #134 ở nồng độ tăng dần trong 10 phút. Phát hiện P-cMet trong các dịch phân giải tế bào bằng ELISA đo OD450-620. Tín toán các tín hiệu tương đối (% phosphoryl hoá) bằng cách sử dụng tín hiệu tối đa (HGF, không có protein #134) và tín hiệu tối thiểu (không có HGF, không có protein #134). Protein #134 ức chế phosphoryl hoá cMet với IC_{50} > 1 nM. %P: % phosphoryl hoá, c: nồng độ của protein #134 theonM.

Fig. 10. Tác dụng của các protein liên kết tái tổ hợp lên tăng trưởng khối u in vivo. Hiệu lực của protein #134 (protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134; bao gồm (i) một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A, (ii) một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF, và (iii) hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh; xem Fig. 1) và của các protein liên kết tái tổ hợp khác được đánh giá trong các mô hình chuột ghép khối u khác loài như được mô tả trong Ví dụ 14. (a) Định lượng các tế bào tăng sinh và diện tích mạch trung bình ở mô khối u trên mô hình chuột nhắt U87M được điều trị bằng protein #134, protein #60 *(protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin của SEQ ID NO:* 60 và có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng-N; bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF (tương đồng với miền này ở protein #134), và một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (tương đồng với miền này ở protein #134)), hoặc protein #61 (protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 61 và có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu

tận cùng-N; bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A (tương đồng với miền này ở protein #134), và một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (tương đồng với miền này ở protein #134)), như được mô tả trong Ví dụ 14. Về khả năng ức chế tăng sinh của các tế bào khối u khác loài ở U87M (P; được xác định theo % tế bào tăng sinh, %pc), protein #60 biểu hiện ức chế ở mức nhẹ, tương tự như protein #61, trong khi đó protein #134 có tác dụng mạnh hơn đáng kể. Tương tự, về khả năng ức chế tăng trưởng mạch máu (A; được xác định là % diện tích mạch trung bình; %mva), protein #60 biểu hiện ức chế ở mức nhẹ, protein #61 biểu hiện ức chế ở mức trung bình, và protein #134 biểu hiện tác dụng ức chế mạnh nhất. PBS (thanh trắng), protein #60 (thanh vạch kẻ ngang), protein #61 (thanh vạch kẻ dọc), protein #134 (thanh đen). (b) Tác dụng của protein #134 đối với tăng trưởng khối u trên mô hình chuột ghép khối u khác loài lấy từ bệnh nhân so với sorafenib và PBS. Chi tiết về mô hình này được mô tả trong Ví dụ 14. Sorafenib ức chế tăng trưởng khối u như kỳ vọng. Thú vị là, protein #134 ức chế tăng trưởng khối u ở mức độ hơn sorafenib, kiểm soát thể tích khối u ở mức ban đầu của nó. V: thể tích khối u theo mm^3, d: ngày điều trị, ký hiệu hình tròn rỗng: chất dẫn, ký hiệu hình tròn đặc: protein #134 (4 mg/kg), hình vuông rỗng: sorafenib (200 mg/kg). (c) Tác dụng của protein #134 lên tăng trưởng khối u ở mô hình chuột ghép khác loài khối u dạ dày của bệnh nhân so với paclitaxel và kết hợp protein #134 và paclitaxel. Chi tiết về mô hình này được mô tả trong Ví dụ 14. Paclitaxel và protein #134 ức chế sự tăng trưởng của khối u ở mức độ như nhau. Kết hợp Paclitaxel và protein #134 ức chế tăng trưởng khối u mạnh hơn, kiểm soát thể tích khối u ở mức ban đầu. V: thể tích khối u theo mm^3, d: ngày sau điều trị, ký hiệu hình tròn rỗng: chất dẫn, ký hiệu hình tròn đặc: protein #134 (4 mg/kg tiêm tĩnh mạch), hình vuông rỗng: paclitaxel (15 mg/kg i.v.), hình tam giác rỗng: protein #134 (4 mg/kg) và paclitaxel (15 mg/kg).

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong ngữ cảnh của sáng chế, thuật ngữ "protein" chỉ polypeptit, trong đó ít nhất một phần của polypeptit này có hoặc có khả năng có cấu trúc ba chiều xác định bằng cách tạo thành các cấu trúc bậc hai, bậc ba hoặc bậc bốn từ một chuỗi polypeptit duy nhất và/hoặc từ nhiều chuỗi polypeptit. Nếu protein bao gồm hai hoặc nhiều chuỗi polypeptit, các chuỗi polypeptit riêng rẽ có được liên kết cộng hoá trị hoặc không

phải cộng hoá trị, ví dụ bằng liên kết đisulfua giữa hai polypeptit. Một phần của protein, riêng rẽ có, hoặc có khả năng có cấu trúc ba chiều xác định bằng cách tạo thành cấu trúc bậc hai hoặc bậc ba, được gọi là "miền protein". Các miền protein này là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực.

Thuật ngữ "tái tổ hợp" như được sử dụng trong protein tái tổ hợp, miền protein tái tổ hợp, protein liên kết tái tổ hợp và chất tương tự, nghĩa là polypeptit này được sản xuất bằng cách sử dụng các công nghệ ADN tái tổ hợp đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực. Ví dụ, phân tử ADN tái tổ hợp (ví dụ được sản xuất bằng cách tổng hợp gen) mã hoá một polypeptit có thể được tách dòng vào plasmit biểu hiện vi khuẩn (ví dụ pQE30, QIAgen), plasmit biểu hiện nấm men, plasmit biểu hiện tế bào động vật có vú, hoặc plasmit biểu hiện tế bào thực vật, hoặc ADN có khả năng biểu hiện in vitro. Nếu, ví dụ, plasmit biểu hiện vi khuẩn tái tổ hợp này được cài xen vào một vi khuẩn thích hợp (ví dụ, *Escherichia coli*), vi khuẩn này có thể sản sinh polypeptit được mã hoá bởi ADN tái tổ hợp này. Polypeptit được sản sinh tương ứng này được gọi là polypeptit tái tổ hợp hoặc protein tái tổ hợp.

Trong ngữ cảnh của sáng chế, thuật ngữ "protein liên kết" chỉ protein bao gồm hai hoặc nhiều, tốt hơn là ba hoặc nhiều, tốt hơn nữa là bốn hoặc nhiều miền liên kết. Tốt hơn là, protein liên kết này là protein liên kết tái tổ hợp. Tốt hơn là, protein liên kết này bao gồm hai hoặc nhiều các miền lặp lại. Tốt hơn nữa là, protein liên kết này bao gồm ba miền lặp lại. Tốt hơn nữa là, protein liên kết này bao gồm bốn miền lặp lại. Cũng tốt hơn là, protein liên kết này bao gồm ba hoặc nhiều miền lặp lại ankyrin được thiết kế. Tốt hơn nữa là, protein liên kết này bao gồm bốn hoặc nhiều miền lặp lại ankyrin được thiết kế. Tốt hơn nữa là, protein liên kết này bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế. Tuỳ ý, protein liên kết này bao gồm một hoặc nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học. Miền liên kết nêu trên của protein liên kết nêu trên đều có tính đặc hiệu đích. Tốt hơn là, hai hoặc nhiều miền liên kết nêu trên của protein liên kết nêu trên đều có tính đặc hiệu đích với albumin huyết thanh. Tốt hơn là, protein liên kết này bao gồm ít nhất ba miền liên kết liên kết với ít nhất hai đích khác nhau. Tốt hơn nữa là, protein liên kết này bao gồm ít nhất bốn miền liên kết liên kết với ít nhất ba đích khác nhau.

Ngoài ra, protein liên kết bất kỳ này có thể bao gồm các polypeptit bổ sung (ví dụ, các nhãn polypeptit, hoặc các liên kết polypeptit, đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ "hợp chất có hoạt tính sinh học" chỉ hợp chất có tính chất cải biến bệnh khi dùng cho động vật có vụ mắc bệnh này. Hợp chất có hoạt tính sinh học có thể có các tính chất đối kháng hoặc chủ vận và có thể là hợp chất protein có hoạt tính sinh học hoặc hợp chất không phải protein có hoạt tính sinh học. Các hợp chất protein có hoạt tính sinh học có thể gắn cộng hoá trị với, ví dụ, miền liên kết của sáng chế bằng cách tạo ra các polypeptit dung hợp gen bằng cách sử dụng các công nghệ tách dòng ADN chuẩn, tiếp đó biểu hiện và tinh chế chúng. Các hợp chất không phải protein có hoạt tính sinh học có thể được gắn cộng hoá trị với, ví dụ, miền liên kết của sáng chế bằng phương pháp hoá học, ví dụ, bằng cách ngẫu hợp với thiol của xystein qua liên kết maleimit với xystein được ngẫu hợp qua liên kết polypeptit với đầu tận cùng-N hoặc đầu tận cùng-C của miền liên kết nêu trên. Các ví dụ về các hợp chất protein có hoạt tính sinh học là miền liên kết có tính đặc hiệu đích phân biệt (ví dụ trung hoà yếu tố tăng trưởng bằng cách liên kết với nó), các xytokin (ví dụ, các intơlơkin), các yếu tố tăng trưởng (ví dụ hormon tăng trưởng của người), các kháng thể và các mảnh của chúng, các hormon (ví dụ GLP-1), hoặc thuốc protein. Các ví dụ về các hợp chất không phải protein có hoạt tính sinh học là các độc tố (ví dụ DM1 của ImmunoGen), các phân tử nhỏ nhằm đích các GPCR, các kháng sinh hoặc các thuốc không phải protein.

Thuật ngữ "miền liên kết" nghĩa là miền protein biểu hiện "gấp lại" giống (nghĩa là cấu trúc bậc hai, bậc ba, và/hoặc bậc bốn) như protein "giàn giáo" và có tính chất định trước, như được xác định dưới đây. Miền liên kết này có thể thu được bằng các kỹ thuật công nghệ protein hợp lý, hoặc hay gặp nhất là kỹ thuật công nghệ protein tái tổ hợp, đã biết trong lĩnh vực (Binz và các đồng tác giả, 2005, đã viện dẫn trong bản mô tả này). Ví dụ, có thể thu được miền liên kết có tính chất định trước bằng phương pháp bao gồm các bước (a) tạo ra bộ sưu tập đa dạng các miền protein biểu hiện cấu trúc gấp giống như protein giàn giáo như được định nghĩa dưới đây; và (b) sàng lọc bộ sưu tập này và/hoặc chọn lọc từ bộ sưu tập này để thu được ít nhất một miền protein có tính chất định trước nêu trên. Bộ sưu tập đa dạng các miền protein này có thể được tạo ra bằng một vài phương pháp theo hệ thống sàng lọc và/hoặc

chọn lọc đang được sử dụng, và có thể bao gồm việc sử dụng các phương pháp đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này, như bộc lộ thực khuẩn thể hoặc bộc lộ ribosom. Tốt hơn là, miền liên kết nêu trên là miền liên kết tái tổ hợp.

Thuật ngữ "protein giàn giáo" là protein có diện tích bề mặt được phơi bày trong đó các đoạn cài xen, thay thế hay khuyết đoạn axit amin được dung nạp ở mức độ cao. Các ví dụ về protein giàn giáo mà có thể được sử dụng để tạo ra miền liên kết của sáng chế là các kháng thể hoặc các mảnh của chúng như Fv chuỗi đơn hoặc các mảnh Fab, protein A từ *Staphylococcus aureus*, protein liên kết bilin từ *Pieris brassicae* hoặc các lipocalin khác, các protein lặp lại ankyrin hoặc các protein lặp lại khác, và fibronectin của người. Protein giàn giáo là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực (Binz và các đồng tác giả, 2005, đã viện dẫn trong bản mô tả này; Binz và các đồng tác giả, 2004, đã viện dẫn trong bản mô tả này).

Thuật ngữ "đích" chỉ phân tử đơn lẻ như là một phân tử axit nucleic, polypeptit hoặc protein, hyđrat cacbon, hoặc phân tử có trong tự nhiên bất kỳ nào khác, bao gồm phần bất kỳ của phân tử đơn lẻ này, hoặc phức hợp của hai hoặc nhiều phân tử này. Đích có thể là toàn bộ tế bào hoặc mẫu mô, hoặc có thể là hợp chất không có trong tự nhiên. Tốt hơn là, đích là polypeptit có trong tự nhiên hoặc không có trong tự nhiên, hoặc polypeptit có các cải biến hoá học, ví dụ, được cải biến bằng cách phosphoryl hoá bằng cách tự nhiên hay không tự nhiên, axetyl hoá, hoặc metyl hoá. Theo phương án cụ thể của sáng chế, các đích là các albumin huyết thanh, HGF và VEGF-A.

Thuật ngữ "tính chất định trước" chỉ tính chất như là liên kết với một đích, phong bế một đích, hoạt hoá một phản ứng qua trung gian-đích, hoạt tính enzym, và các tính chất có liên quan khác. Tuỳ thuộc vào loại tính chất mong muốn, một chuyên gia trong lĩnh vực sẽ có thể xác định cách thức và các bước cần thiết để tiến hành sàng lọc và/hoặc chọn lọc miền liên kết với tính chất mong muốn. Tốt hơn là, tính chất định trước này là liên kết đặc hiệu với một đích.

Trong ngữ cảnh của sáng chế, thuật ngữ "polypeptit" chỉ phân tử gồm có chuỗi của nhiều, nghĩa là hai hoặc nhiều, axit amin được liên kết qua liên kết peptit. Tốt hơn là, polypeptit gồm có nhiều hơn tám axit amin được liên kết qua liên kết peptit. Thuật ngữ “polypeptit” cũng bao gồm nhiều chuỗi axit amin amin, được liên kết với

nhau qua các cầu S-S của các xystein. Các polypeptit là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực.

Thuật ngữ "nhãn polypeptit" chỉ một trình tự axit amin được gắn với polypeptit/protein, trong đó trình tự axit amin này là hữu ích để tinh chế, phát hiện hoặc "nhằm đích" (nghĩa là định vị đến vị trí đích) của polypeptit/protein này, hoặc trong đó trình tự axit amin này cải thiện tính chất hoá lý của polypeptit/protein này, hoặc trong đó trình tự axit amin này có chức năng hiệu ứng. Các nhãn polypeptit đơn lẻ của protein liên kết có thể được kết nối với các phần khác của protein liên kết trực tiếp hoặc qua các liên kết polypeptit. Các nhãn polypeptit này là đã biết trong lĩnh vực và sẵn có với các chuyên gia trong lĩnh vực. Các ví dụ về các nhãn polypeptit là các trình tự polypeptit nhỏ, ví dụ, His (ví dụ nhãn-His của SEQ ID NO: 1), myc, FLAG, hoặc nhãn-Strep, hoặc các polypeptit như các enzym (ví dụ, phosphataza kiềm), các nhãn này cho phép phát hiện polypeptit/protein, hoặc polypeptit nêu trên, mà có thể được sử dụng để nhằm đích (như các globulin miễn dịch hoặc mảnh của chúng) và/hoặc như các phân tử hiệu ứng.

Thuật ngữ "liên kết polypeptit" chỉ trình tự axit amin, mà có thể liên kết, ví dụ, hai miền protein, nhãn polypeptit và miền protein, miền protein và hợp chất không phải là protein hoặc polyme như polyetylen glycol, hoặc hai nhãn trình tự. Các miền, nhãn, hợp chất không phải protein hoặc polyme và liên kết bổ sung này là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực. Danh mục các ví dụ được đề cập trong bản mô tả Công bố đơn quốc tế số WO 2002/020565. Các ví dụ cụ thể về các liên kết này là các liên kết-glyxin-serin và liên kết-prolin-threonin có độ dài khác nhau; tốt hơn là, các liên kết này có độ dài khoảng từ 2 đến 30 axit amin; tốt hơn nữa là, các liên kết này có độ dài khoảng từ 2 đến 24 axit amin. Các ví dụ về các liên kếtglyxin-serin là GS và các trình tự axit amin trong các trình tự từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 6, và các ví dụ về các liên kết-prolin-threonin là trong các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 7 đến SEQ ID NO: 9.

Công bố đơn quốc tế số WO 2002/020565 và tài liệu của Forrer và các đồng tác giả, 2003 (đã viện dẫn trong bản mô tả này), có phần mô tả chung về các đặc điểm của protein lặp lại và đặc điểm của miền lặp lại, các kỹ thuật và ứng dụng. Thuật ngữ "protein lặp lại" chỉ protein bao gồm một hoặc nhiều các miền lặp lại. Tốt hơn là,

protein lặp lại bao gồm tối đa sáu miền lặp lại. Tốt hơn nữa là, protein lặp lại bao gồm tối đa năm miền lặp lại. Tốt hơn nữa là, protein lặp lại bao gồm tối đa bốn miền lặp lại. Hơn nữa, protein lặp lại này có thể bao gồm các miền protein không lặp lại bổ sung, các nhãn polypeptit và/hoặc các liên kết polypeptit. Các miền lặp lại có thể là miền liên kết nêu trên.

Thuật ngữ "miền lặp lại" chỉ miền protein bao gồm hai hoặc nhiều phân tử lặp lại liên tiếp là các đơn vị cấu trúc, trong đó các đơn vị cấu trúc này có cùng cách gấp lại và xếp chồng khít để tạo ra cấu trúc siêu xoắn ốc có nhân kỵ nước chung. Ngoài tương đồng về cấu trúc, các phân tử lặp lại này còn có sự tương đồng trình tự. Tốt hơn là, miền lặp lại còn bao gồm đoạn lặp chụp mũ đầu tận cùng-N và/hoặc đầu tận cùng-C. Để cho rõ, đoạn lặp chụp mũ có thể là phân tử lặp lại. Các miền lặp lại, các mô-đun lặp lại, và các đoạn lặp chụp mũ, các mô-típ trình tự này cũng như sự tương đồng về cấu trúc và tương đồng về trình tự là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực từ các ví dụ về miền lặp lại ankyrin được thiết kế (WO 2002/020565), các miền lặp lại giàu-lơxin (WO 2002/020565), các miền lặp lại tetratricopeptit (Structure 11(5), 497-508, 2003 của Main, E.R., Xiong, Y., Cocco, M.J., D'Andrea, L., Regan, L.), và các miền lặp lại kiểu armadillo (WO 2009/040338). Cũng đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực là, các miền lặp lại này là khác biệt với các protein bao gồm các trình tự axit amin được lặp lại, trong đó mỗi trình tự axit amin được lặp lại có khả năng tạo thành một miền đơn lẻ (ví dụ, các miền FN3 của Fibronectin), hoặc trong đó các trình tự axit amin được lặp lại không phải là các đơn vị cấu trúc, nghĩa là các trình tự axit amin được lặp lại này không xếp chồng khít để tạo ra cấu trúc siêu xoắn có chung nhân kỵ nước. Các phương pháp để nhận dạng và xác định các mô-đun lặp lại hoặc mô-típ trình tự lặp lại hoặc để nhận dạng các họ protein cùng họ bao gồm các đơn vị hoặc mô-típ lặp lại này, như là tra cứu tương đồng (BLAST v.v.), cũng đã biết trong lĩnh vực tin sinh học và là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực.

Thuật ngữ "protein lặp lại được thiết kế" và "miền lặp lại được thiết kế" tương ứng chỉ protein lặp lại hoặc miền lặp lại, thu được bằng quy trình sáng chế, ví dụ như được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO 2002/020565. Thuật ngữ "được thiết kế" chỉ tính chất mà các protein lặp lại và các miền lặp lại này là do con người tạo ra, bằng cách tổng hợp không phải có trong tự nhiên. Protein lặp lại được thiết kế hoặc các miền lặp lại được thiết kế theo WO 2002/020565 tương ứng bao gồm các protein

lặp lại ankyrin được thiết kế hoặc các miền lặp lại ankyrin được thiết kế. Do đó, protein lặp lại ankyrin được thiết kế trong bản mô tả này tương ứng với protein của sáng chế bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế. Hơn nữa, thuật ngữ "không có trong tự nhiên" nghĩa là trình tự của protein liên kết hoặc miền liên kết này là không có trong tự nhiên như là một trường hợp trình tự nhân tạo trong cơ sở dữ liệu trình tự, ví dụ, trong GenBank, EMBL-Bank hoặc Swiss-Prot. Các cơ sở dữ liệu và các cơ sở dữ liệu trình tự khác là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Các protein liên kết tái tổ hợp hoặc miền lặp lại ankyrin được thiết kế của sáng chế là không có trong tự nhiên.

Các thuật ngữ "mô-đun lặp lại", "đơn vị lặp lại", "đoạn lặp lại chụp mũ", "mô-đun chụp mũ", và các thuật ngữ khác đề cập đến các protein lặp lại và các miền lặp lại, được xác định trong: WO 2002/020565, và các định nghĩa được viện dẫn ở đây.

Thuật ngữ "có tính đặc hiệu liên kết với một đích", "liên kết đặc hiệu với một đích", "liên kết với một đích với độ đặc hiệu cao", "đặc hiệu với một đích" hoặc "tính đặc hiệu đích" và các thuật ngữ tương tự là protein liên kết hoặc miền liên kết liên kết trong PBS với một đích với hằng số phân ly thấp (nghĩa là liên kết với ái lực cao) hơn so với liên kết với protein không liên quan như protein liên kết maltose *E. coli* (MBP). Tốt hơn là, hằng số phân ly ("Kd") trong PBS đối với đích này ít nhất bằng 10^2; tốt hơn nữa là, ít nhất bằng 10^3; tốt hơn nữa là, ít nhất bằng 10^4; hoặc tốt hơn nữa là, ít nhất bằng 10^5 thấp hơn so với hằng số phân ly đối với MBP.

Các phương pháp để xác định hằng số phân ly của các tương tác proteinprotein, như các công nghệ dựa trên cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) (ví dụ phân tích cân bằng SPR) hoặc đo nhiệt lượng chuẩn độ đẳng nhiệt (ITC) là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Các giá trị Kd đo được của một tương tác proteinprotein cụ thể có thể biến thiên nếu đo trong các điều kiện khác nhau (ví dụ, nồng độ muối, độ pH). Do đó, xác định các giá trị Kd tốt hơn là được tiến hành với các dung dịch protein được chuẩn hoá và đệm được chuẩn hoá, như PBS.

Thuật ngữ "PBS" chỉ dung dịch nước đệm phosphat có chứa 137 mM NaCl, 10 mM phosphat và 2,7 mM KCl và có độ pH = 7.4.

Thuật ngữ "ức chế liên kết" trong ngữ cảnh của miền liên kết của sáng chế chỉ khả năng ngăn ngừa liên kết của đích của nó với một protein khác của miền liên kết nêu trên, protein khác này thường là phối tử tự nhiên của đích hoặc chất đối kháng khác. Mức độ ức chế thường được xác định bằng cách đánh giá nồng độ ức chế bán tối đa (IC_{50}). Thuật ngữ ức chế và đánh giá các giá trị IC_{50} là đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trình tự SEQ ID NO: 18 ức chế liên kết của VEGF-A với phối tử tự nhiên của nó VEGFR-2.

Sáng chế đề cập đến các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, và đến các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, và đến các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này có tính đặc hiệu liên kết với HGF, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Các ví dụ về các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh là các trình tự từ SEQ ID NO: 40 đến SEQ ID NO: 56 (Xem phần Ví dụ thực hiện sáng chế) và các ví dụ khác nữa được mô tả trong: WO 2012/069654. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh được chọn trong nhóm gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 49 và SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50, trong đó tối đa đến 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, hoặc 0 axit amin được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh mà có mức tương đồng trình tự 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% với miền lặp lại ankyrin được thiết kế được chọn trong nhóm gồm trình tự từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 49

và SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với huyết thanh bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 49 và SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với huyết thanh được chọn có trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 49 và SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50. Miền lặp lại ankyrin được thiết kế được ưu tiên có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh của sáng chế là SEQ ID NO: 50. Tốt hơn là, miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh nêu trên liên kết albumin huyết thanh của chuột nhắt, chuột cống, chó, khỉ cynomolgus, hoặc người, tốt hơn nữa là albumin huyết thanh của chuột nhắt, khỉ cynomolgus hoặc người, tốt hơn nữa là albumin huyết thanh của khỉ cynomolgus hoặc người, tốt hơn nữa là albumin huyết thanh của người, trong PBS với hằng số phân ly (Kd) < 10^{-5}M; tốt hơn là < 10^{-6}M; hoặc tốt hơn nữa là < 10^{7}M. Thuật ngữ "albumin huyết thanh chuột" chỉ UniProt số truy cập P07724, thuật ngữ "albumin huyết thanh khỉ cynomolgus" (nghĩa là *macaca fascicularis*) chỉ UniProt số truy cập A2V9Z4, và thuật ngữ "albumin huyết thanh người" chỉ UniProt số truy cập P02768. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh bao gồm, tốt hơn nữa là có trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 49 và SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50, các trình tự này thể hiện độ ổn định trong bảo quản được cải thiện so với SEQ ID NO: 51. "Độ ổn định trong bảo quản được cải thiện" trong ngữ cảnh của sáng chế là điểm giữa của nhiệt độ biến tính được cải thiện (nghĩa là điểm giữa mở gấp hợp tác khi tăng nhiệt độ) ở mức 0,5°C, 1°C, 1,5°C, 2°C, 2,5°C, 3°C, 3,5°C, hoặc 4°C, và/hoặc giảm mức của vết phân huỷ, tốt hơn là giảm lượng các sản phẩm phân huỷ, được phát hiện bằng SDS-PAGE nhuộm màu-Coomassie xuất hiện sau khi bảo quản ở 40°C trong 1 tháng ở 10 mg/ml trong PBS, ở mức ít nhất là 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, hoặc 50%. Các phương pháp đánh giá độ ổn định trong

bảo quản bằng SDSPAGE và các phương pháp xác định điểm giữa biến tính bằng cách sử dụng phương pháp xác định hàm lượng flo hoặc tính lưỡng sắc tròn là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh bao gồm, tốt hơn nữa là có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, mà thể hiện độ ổn định trong bảo quản được cải thiện so với SEQ ID NO: 49, tốt hơn là trình tự này biểu hiện lượng sản phẩm phân huỷ giảm đi, như được phát hiện bằng SDS-PAGE, xuất hiện sau khi bảo quản ở 40°C trong 1 tháng ở 10 mg/ml trong PBS, ở mức ít nhất là 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, hoặc 50%, so với SEQ ID NO: 49. Các ví dụ về các miền lặp lại ankyrin được thiết kế và các protein liên kết tái tổ hợp có các tính chất về độ ổn định trong bảo quản được cải thiện được nêu trong Ví dụ 9.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 44 đến SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51 và SEQ ID NO: 52, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, và SEQ ID NO: 52, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 48 và SEQ ID NO: 49, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 49, bao gồm Glutamat ở vị trí 78. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến SEQ ID NO: 49 trong đó Aspartat ở vị trí 78 đã được hoán đổi bằng Glutamat, tương ứng với SEQ ID NO: 50. SEQ ID NO: 49 bao gồm số lượng các vị trí có khả năng phân huỷ cao hơn. Sự phân huỷ có thể ví dụ, xảy ra ở gần một trong số 5 asparagin bất kỳ (kể cả các dipeptit asparagin-glyxin), 13 aspartat, hoặc 10 glyxin của SEQ ID NO: 49, trong số các vị trí có thể bị phân huỷ bổ sung khác. SEQ ID NO: 49 còn bao gồm một số các vị trí có thể bị oxy hoá. Bất ngờ, có thể đạt được tác động chính lên độ ổn định bảo quản bằng cách chỉ đột biến vị trí 78 của SEQ ID NO: 49. Ngoài ra, có thể bảo toàn tính năng của đoạn lặp ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh bằng cách đột biến vị trí 78 của SEQ ID NO: 49 từ aspartat thành glutamin. Miền lặp lại ankyrin được thiết kế có SEQ ID NO: 49 bao gồm Glutamat ở vị trí 78 biểu hiện độ ổn định bảo quản cao hơn so với miền lặp lại ankyrin được thiết kế bao gồm Aspartat ở vị trí đó.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai, tốt hơn là bao gồm hai, miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu

liên kết đối với albumin huyết thanh. Protein liên kết tái tổ hợp được ưu tiên của sáng chế bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Các ví dụ về các protein liên kết tái tổ hợp là các trình tự axit amin của SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, từ SEQ ID NO: 73 đến SEQ ID NO: 81, và từ SEQ ID NO: 95 đến SEQ ID NO: 179.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai, tốt hơn nữa là bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó protein liên kết tái tổ hợp này biểu hiện các tính chất dược động học được cải thiện so với protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Các ví dụ của sáng chế bộc lộ các protein liên kết tái tổ hợp này.

Thuật ngữ "protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh", nghĩa là liên kết tái tổ hợp có thành phần của protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế trong đó số lượng các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh giảm xuống còn một, bằng cách loại bỏ tất cả các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh trừ một miền, và các liên kết polypeptit tương ứng. Tốt hơn là, một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh còn lại này ở vị trí trong protein liên kết tái tổ hợp tương ứng với vị trí mà bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh trong protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế, và một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh còn lại là tương đồng với miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh mà ở vị trí tương ứng đó trong protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế. Ví dụ, protein liên kết tái tổ hợp có trình tự của SEQ ID NO: 85 là protein liên kết tái tổ hợp có trình tự của SEQ ID NO: 95, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế đầu tận cùng-C có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (trong trường hợp này là SEQ ID NO: 50) cũng như liên kết polypeptit liền kề (trong trường hợp này là SEQ ID NO: 9) đã bị loại bỏ. Quan trọng là, miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (SEQ ID NO: 50) có trình tự của SEQ ID NO: 85 là đầu tận

cùng-N, và SEQ ID NO: 95 bao gồm chính SEQ ID NO: 50 này ở cùng vị trí. Tương tự, protein liên kết tái tổ hợp có trình tự của SEQ ID NO: 83 là protein liên kết tái tổ hợp có trình tự của SEQ ID NO: 110, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế đầu tận cùng-C có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (trong trường hợp này là SEQ ID NO: 50) cũng như liên kết polypeptit liền kề (trong trường hợp này là SEQ ID NO: 9) đã bị loại bỏ.

Thuật ngữ "biểu hiện các tính chất dược động học được cải thiện", "các tính chất dược động học được cải thiện", hoặc "cải thiện tính chất dược động học" trong sáng chế này có nghĩa là thông số dược động học của protein liên kết tái tổ hợp được cải thiện so với thông số dược động học tương ứng của một protein mà nó so sánh với. Các ví dụ tương ứng được thể hiện trong các Ví dụ 5 và 6 và Fig. 3 và Fig. 4. Ví dụ, khi so sánh protein #110 (protein có trình tự của SEQ ID NO: 110 và thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N) với protein #83 (protein có trình tự của SEQ ID NO: 83 và thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N) trong các nghiên cứu dược động học trên khỉ cynomolgus protein #110 có nồng độ trong máu cao hơn (+32%), thanh thải giảm đi (-47%) cũng như thời gian bán thải dài hơn (+168%, được tính từ ngày 1 đến ngày 6) so với protein #83. Một ví dụ khác, khi so sánh protein #62 (protein có trình tự của SEQ ID NO: 62 và thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N) với protein #57 (protein có trình tự của SEQ ID NO: 57 và thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N) trong các nghiên cứu dược động học trên khỉ cynomolgus protein #62 có nồng độ trong máu cao hơn (+119%), thanh thải giảm đi (-71%) cũng như thời gian bán thải dài hơn (+97%, được tính từ ngày 1 đến ngày 7) so với protein #57. Hoặc khi so sánh protein #109 (protein có trình tự của SEQ ID NO: 109 và thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N) với protein #82 (protein có trình tự của SEQ ID NO: 82 và thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N) trong các nghiên cứu dược động học trên khỉ cynomolgus protein #109 có nồng độ trong máu cao hơn (+19%), thanh thải giảm đi (-37%) cũng như thời gian bán thải dài hơn (+55%, được tính từ ngày 1 đến ngày 7) so với protein #82. Một ví dụ khác là, khi so sánh protein #97 (protein có trình tự của SEQ ID NO: 97 và thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N) với protein #68 (protein có trình tự của SEQ ID NO: 68 và thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N) trong các nghiên cứu dược động học trên khỉ cynomolgus protein #97 có thời gian bán thải dài hơn (+264%, được tính từ ngày 1 đến ngày 7) so với protein #68. Các ví dụ khác được nêu trong các Ví dụ 5

và 6 cũng như Fig. 3 và Fig. 4. Tốt hơn là, tính chất dược động học được cải thiện là thanh thải giảm đi, và/hoặc nồng độ trong máu tăng, và/hoặc tăng thời gian bán thải. Tốt hơn nữa là, tính chất dược động học được cải thiện là tăng thời gian bán thải. Theo một phương án, protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế, bao gồm ít nhất hai, tốt hơn nữa là bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh biểu hiện tăng thời gian bán thải, và/hoặc thanh thải giảm đi, và/hoặc nồng độ trong máu tăng ở mức ít nhất là 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, hoặc 250% so với protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Theo một phương án, protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế, bao gồm ít nhất hai, tốt hơn nữa là bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh biểu hiện tăng thời gian bán thải, tốt hơn là tăng thời gian bán thải ở mức ít nhất là 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, hoặc 250% so với protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh.

Tốt hơn là, độ thanh thải, và/hoặc nồng độ trong máu, và/hoặc thời gian bán thải được đánh giá ở động vật có vú, tốt hơn nữa ở chuột nhắt và/hoặc khỉ cynomolgus, tốt hơn nữa là ở khỉ cynomolgus. Tốt hơn là, khi xác định độ thanh thải, và/hoặc nồng độ trong máu, và/hoặc thời gian bán thải ở chuột, tiến hành đánh giá dữ liệu cho đến 48 giờ sau khi tiêm. Tốt hơn nữa là, đánh giá thời gian bán thải ở chuột được tính từ 24 giờ đến 48 giờ. Tốt hơn là, khi xác định độ thanh thải, và/hoặc nồng độ trong máu, và/hoặc thời gian bán thải ở khỉ cynomolgus, tiến hành đánh giá dữ liệu cho đến 7 ngày sau khi tiêm. Tốt hơn nữa là, đánh giá thời gian bán thải ở khỉ cynomolgus được tính từ ngày 1 đến ngày 7. Thuật ngữ "thời gian bán thải" của một thuốc như protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế chỉ thời gian cần thiết để đạt đến nồng độ bằng một nửa nồng độ trong huyết tương của thuốc đã dùng cho động vật có vú sau khi đạt đến trạng thái giả-cân bằng (ví dụ, được tính từ 24 giờ đến 48 giờ ở chuột hoặc được tính từ ngày 1 đến ngày 7 ở khỉ cynomolgus). Thời gian bán thải không được xác định là thời gian cần thiết để thải trừ một nửa liều dùng của thuốc đã sử dụng cho động vật có vú này. Thuật ngữ thời gian bán thải là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Tốt hơn là, so sánh dược động học được tiến hành ở liều dùng

bất kỳ, tốt hơn nữa là ở liều dùng tương đương (nghĩa là cùng liều dùng mg/kg) hoặc liều dùng tương đương mol (nghĩa là cùng liều dùng mol/kg), tốt hơn nữa là ở liều dùng tương đương mol (nghĩa là cùng liều dùng mol/kg). Sẽ được hiểu bởi chuyên gia trong lĩnh vực này là liều dùng tương đương và/hoặc tương đương mol ở động vật là có biến thiên liều dùng thí nghiệm ít nhất 20%, tốt hơn nữa là 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, hoặc 100%. Tốt hơn là, liều dùng được sử dụng để xác định dược động học được chọn từ 0,001 đến 1000 mg/kg, tốt hơn nữa là từ 0,01 đến 100 mg/kg, tốt hơn nữa là 0,1 đến 50 mg/kg, tốt hơn nữa là từ 0,5 đến 10 mg/kg.

Theo một phương án, protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế bao gồm ít nhất hai, tốt hơn nữa là bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, biểu hiện % liều dùng đã tiêm cao hơn ở chuột nhắt 24 giờ và/hoặc 48 giờ và/hoặc 72 giờ sau khi tiêm, tốt hơn là 24 giờ sau khi tiêm, tốt hơn là 48 giờ sau khi tiêm, tốt hơn nữa là 72 giờ sau khi tiêm, tốt hơn nữa là 72 giờ và 48 giờ sau khi tiêm, tốt hơn nữa là 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ sau khi tiêm, so với protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Tốt hơn là, % liều dùng đã tiêm ở chuột nhắt được tính bằng cách so sánh với nồng độ xác định ở 1 giờ hoặc 4 giờ, tốt hơn là 1 giờ sau khi tiêm. Theo một phương án, protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế bao gồm ít nhất hai, tốt hơn nữa là bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, biểu hiện % liều dùng đã tiêm cao hơn ở khỉ cynomolgus 4 ngày và/hoặc 5 ngày và/hoặc 6 ngày sau khi tiêm, tốt hơn là 4 ngày, tốt hơn là 5 ngày, tốt hơn nữa là 6 ngày, tốt hơn nữa là 5 và 6 ngày sau khi tiêm, tốt hơn nữa là 4, 5, và 6 ngày sau khi tiêm, so với protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Tốt hơn là, % liều dùng đã tiêm ở khỉ cynomolgus được tính bằng cách so sánh với nồng độ xác định ở 10 phút hoặc 1 giờ, tốt hơn là 10 phút sau khi tiêm. % liều dùng đã tiêm cao hơn chỉ % gia tăng của liều dùng ở mức ít nhất là 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, hoặc 250%.

Theo một phương án, protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế bao gồm ít nhất ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế, trong đó ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế là các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với

albumin huyết thanh. Các ví dụ về các protein liên kết tái tổ hợp này là các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 73 đến SEQ ID NO: 81 và từ SEQ ID NO: 95 đến SEQ ID NO: 179.

Theo một phương án, protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế, trong đó ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế là các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Các ví dụ về các protein liên kết tái tổ hợp là các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 95 đến SEQ ID NO: 179.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó mỗi miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh trong PBS có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh có nguồn gốc động vật có vú, tốt hơn nữa là của chuột nhắt, chuột cống, chó, khỉ cynomolgus, hoặc người, tốt hơn nữa là albumin huyết thanh của chuột nhắt, khỉ cynomolgus hoặc người, tốt hơn nữa là albumin huyết thanh của khỉ cynomolgus hoặc người, tốt hơn nữa là albumin huyết thanh của người.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó mỗi miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh liên kết albumin huyết thanh, tốt hơn nữa là albumin huyết thanh có nguồn gốc động vật có vú, tốt hơn nữa là albumin huyết thanh của chuột nhắt, chuột cống, chó, khỉ cynomolgus, hoặc của người, tốt hơn nữa là albumin huyết thanh của chuột nhắt, khỉ cynomolgus hoặc của người, tốt hơn nữa là albumin huyết thanh của khỉ cynomolgus hoặc của người, tốt hơn là albumin huyết thanh của người, trong PBS với hằng số phân ly (Kd) < 10^{-5}M, tốt hơn là < 10^{-6}M, tốt hơn nữa là < 10^{-7}M. Các ví dụ về các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh là trong Ví dụ 2 và các trình tự từ SEQ ID NO: 40 đến SEQ ID NO: 56.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối

với albumin huyết thanh là ở vị trí bất kỳ so với miền protein khác bất kỳ, tốt hơn là miền lặp lại ankyrin được thiết kế khác bất kỳ, có chứa trong protein liên kết tái tổ hợp nêu trên, tốt hơn là trong đó hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh này đều là đầu tận cùng-N của miền protein khác bất kỳ, tốt hơn là miền lặp lại ankyrin được thiết kế khác bất kỳ, có chứa trong protein liên kết tái tổ hợp nêu trên, hoặc trong đó hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh này một là đầu tận cùng-N và một là đầu tận cùng-C của miền protein khác bất kỳ, tốt hơn là miền lặp lại ankyrin được thiết kế khác bất kỳ, có chứa trong protein liên kết tái tổ hợp nêu trên, hoặc, tốt hơn nữa là, trong đó hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh này một là đầu tận cùng-N và một là đầu tận cùng-C của miền protein khác bất kỳ, tốt hơn là miền lặp lại ankyrin được thiết kế khác bất kỳ, có chứa trong protein liên kết tái tổ hợp nêu trên. Tốt hơn là, hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh nêu trên đều không phải là đầu tận cùng-C của miền protein khác bất kỳ, tốt hơn là miền lặp lại ankyrin được thiết kế khác bất kỳ, có chứa trong protein liên kết tái tổ hợp nêu trên. Các ví dụ về cách sắp xếp khác nhau của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế trong một protein liên kết tái tổ hợp là các trình tự từ SEQ ID NO: 95 đến SEQ ID NO: 179, và được mô tả trong các Ví dụ thực hiện sáng chế. SEQ ID NO: 134 minh hoạ cách sắp xếp được ưu tiên của hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh trong một protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất ba, tốt hơn là bao gồm ít nhất bốn, tốt hơn nữa là bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế, trong đó hai trong số ít nhất ba, tốt hơn là ít nhất bốn, tốt hơn nữa là bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh, và/hoặc, tốt hơn là và trong đó ít nhất ba, tốt hơn là ít nhất bốn, tốt hơn nữa là bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh lần lượt có mức tương đồng ít nhất là 90%,

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% với trình tự axit amin bất kỳ được chọn trong nhóm gồm từ SEQ ID NO: 44 đến SEQ ID NO: 52, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 49 và SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ được chọn từ nhóm từ SEQ ID NO: 44 đến SEQ ID NO: 52, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 49 và SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50, và trong đó trong mỗi miền trong số hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh này có tối đa đến 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 hoặc 0 axit amin được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ được chọn trong nhóm từ SEQ ID NO: 44 đến SEQ ID NO: 52, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 49 và SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh tương đồng trình tự axit amin ở mức ít nhất là 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100%. Theo một phương án, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh của protein liên kết tái tổ

hợp nêu trên là tương đồng về trình tự axit amin. Ví dụ, hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh có trong SEQ ID NO: 130 tương đồng ít nhất là 95% (khác biệt 6 gốc trên tổng số 124 axit amin). Trong một ví dụ khác, hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh có trong SEQ ID NO: 129 tương đồng ít nhất là 80% (khác biệt 24 trên tổng số 124 axit amin).

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh có khả năng liên kết đồng thời với một phân tử albumin huyết thanh. Tốt hơn là, albumin huyết thanh là của người. Các ví dụ về các protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế, bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, liên kết đồng thời hai phân tử albumin huyết thanh, được đề cập trong Ví dụ 7.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất ba, tốt hơn là ít nhất bốn, tốt hơn nữa là bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế, trong đó ít nhất hai, tốt hơn nữa là hai trong số các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này là các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, tốt hơn nữa là albumin huyết thanh của người, và trong đó ít nhất là hai, tốt hơn nữa là hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh nêu trên, tốt hơn là một là đầu tận cùng-N và một là đầu tận cùng-C của miền lặp lại ankyrin được thiết kế khác bất kỳ, tốt hơn là hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại, và trong đó ít nhất hai, tốt hơn nữa là hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh này liên kết albumin huyết thanh, tốt hơn là albumin huyết thanh của người, trong PBS với hằng số phân ly (Kd) ít nhất là 10^{5}M, tốt hơn là < 10^{-6}M, hoặc tốt hơn nữa là < 10^{-7}M, và trong đó protein liên kết tái tổ hợp biểu hiện nêu trên tăng thời gian bán thải, tốt hơn là tăng thời gian bán thải ở mức ít nhất là 5%, 10%, 15%, 20%,

25%, 30%, 35%, 40%, 45%, hoặc 50% so với protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, và trong đó ít nhất ba, tốt hơn là ít nhất bốn, tốt hơn nữa là bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế nêu trên được liên kết bằng các liên kết polypeptit. Theo một phương án, ít nhất hai, tốt hơn nữa là hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh của protein liên kết tái tổ hợp nêu trên là tương đồng ở mức ít nhất là 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100%, tốt hơn nữa là tương đồng.

Theo một phương án, các miền protein hoặc các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trong một protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế được liên kết bằng các liên kết polypeptit có trình tự axit amin bất kỳ. Theo một phương án, các liên kết polypeptit liên kết các miền protein hoặc các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trong một protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế bao gồm các trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 3 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 4 đến SEQ ID NO:9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 6 hoặc SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 9, trong đó tối đa đến 4, 3, 2, 1, 0 axit amin được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ. Theo một phương án, các liên kết polypeptit này bao gồm trình tự axit amin của trình tự được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 3 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 4 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 6 hoặc SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 9. Theo một phương án, tuỳ ý không có Gly Ser ở đầu tận cùng-N bên sườn của trình tự từ SEQ ID NO: 7 đến SEQ ID NO: 9 và/hoặc Gly Ser ở đầu tận cùng-C bên sườn của trình tự từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9. Theo một phương án, các trình tự từ SEQ ID NO: 7 đến SEQ ID NO: 9 còn bao gồm Arg Ser ở đầu tận cùng-C (ví dụ trong SEQ ID NO: 68 và SEQ ID NO: 109). Theo một phương án, axit amin glyxin thứ hai-cho đến-đầu tận cùng-C của các liên kết polypeptit nêu trên của trình tự từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 6 có thể hoán đổi thành arginin (ví dụ trong SEQ ID NO: 70 và SEQ ID NO: 88). Theo một phương án, các liên kết polypeptit liên kết các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trong protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế có trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9,

tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 3 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 4 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 6 hoặc SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 9. Theo một phương án, các liên kết polypeptit có trong protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế là tương đồng ở mức 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100%, tốt hơn là tương đồng.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó các liên kết polypeptit nêu trên bao gồm các trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 3 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 4 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 6 hoặc SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 9, trong đó tối đa đến 4, 3, 2, 1, 0 axit amin được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh lần lượt có mức tương đồng ít nhất là 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% với trình tự axit amin bất kỳ được chọn trong nhóm từ SEQ ID NO: 44 đến SEQ ID NO: 52, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 49 và SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó các liên kết polypeptit nêu trên có trình tự axit amin được chọn trong số các trình tự axit amin SEQ ID NO: 6 hoặc SEQ ID NO: 9, trong đó tối đa đến 4, 3, 2, 1, 0 axit amin được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh có trình tự axit amin mà có mức tương đồng ít nhất là 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% với trình tự axit amin bất kỳ được chọn trong nhóm gồm từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính

đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh này lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh nêu trên lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, và trong đó protein liên kết tái tổ hợp này biểu hiện độ ổn định trong bảo quản được cải thiện, tốt hơn là giảm lượng sản phẩm phân huỷ sau khi bảo quản ở 40°C trong 1 tháng ở nồng độ 10 mg/ml trong PBS, so với protein liên kết tái tổ hợp, trong đó ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh nêu trên lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 49, và/hoặc so với protein liên kết tái tổ hợp, trong đó ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh nêu trên lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 51, tốt hơn là so với protein liên kết tái tổ hợp, trong đó ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh nêu trên lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 49.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh nêu trên lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 9.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh nêu trên lần lượt có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với

albumin huyết thanh, trong đó ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh nêu trên lần lượt có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit, mỗi liên kết có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 9.

Theo một phương án sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế, trong đó hai trong số các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này là các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, trong đó hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh này lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit, mỗi liên kết bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 9, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được sắp xếp (từ đầu tận cùng-N đến tận cùng-C): SEQ ID NO: 50 – SEQ ID NO: 9 – XXX – SEQ ID NO: 9 – YYY – SEQ ID NO: 9 – SEQ ID NO: 50, trong đó XXX và YYY lần lượt biểu thị miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với một đích khác không phải là albumin huyết thanh.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này có tính đặc hiệu liên kết với HGF, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh. Tốt hơn là, protein liên kết tái tổ hợp này có chứa chuỗi polypeptit đơn nhất. Tốt hơn nữa là, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư nêu trên được liên kết bằng các liên kết polypeptit. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này có tính đặc hiệu liên kết với HGF, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh. Các ví dụ về các protein liên

kết tái tổ hợp này là các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 95 đến SEQ ID NO: 108 và từ SEQ ID NO: 116 đến SEQ ID NO: 179.

Tốt hơn là, miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A liên kết VEGF-A của chuột nhắt, chuột cống, chó, thỏ, khỉ cynomolgus, hoặc của người, tốt hơn nữa là VEGF-A của chuột nhắt, khỉ cynomolgus, hoặc của người, tốt hơn nữa là VEGF-A của khỉ cynomolgus, hoặc của người, tốt hơn nữa là VEGF-A của người. Tốt hơn là, VEGF-A là VEGF-A165 của người. Các ví dụ về miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A là được đề cập trong bản mô tả này (từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 21; xem phần Ví dụ thực hiện sáng chế) và các ví dụ khác nữa được mô tả trong: WO 2010/060748 và WO 2011/135067.

Tốt hơn là, miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF liên kết HGF của chuột nhắt, chuột cống, chó, thỏ, khỉ cynomolgus, hoặc của người, tốt hơn nữa là HGF của chuột nhắt, khỉ cynomolgus, hoặc của người, tốt hơn nữa là HGF của khỉ cynomolgus, hoặc của người, tốt hơn nữa là HGF của người. Các ví dụ về miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết với HGF là được đề cập trong bản mô tả này (từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 37; xem phần Ví dụ thực hiện sáng chế) và các ví dụ khác nữa được mô tả trong WO 2014/191574.

Theo một phương án, protein liên kết tái tổ hợp hoặc miền lặp lại ankyrin được thiết kế không có gốc Cys tự do. "gốc Cys tự do" không tham gia tạo thành liên kết đisulfua. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết miền liên kết không có gốc Cys. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế và/hoặc protein liên kết tái tổ hợp không có liên kết đisulfua. Các liên kết đisulfua của các mảnh kháng thể ví dụ, là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực gây cản trở việc sản xuất một cách đơn giản các mảnh kháng thể ở vi khuẩn.

Các kỹ thuật nhằm cải biến protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này.

Cụ thể là, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này liên kết VEGF-A trong PBS với hằng

số phân ly (Kd) < 10^{-7}M; tốt hơn là < 10^{-8}M; tốt hơn nữa là < 10^{-9}M; hoặc tốt hơn nữa là < 10^{-10}M; và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này liên kết HGF trong PBS với Kd < 10^{-7}M; tốt hơn là < 10^{-8}M; tốt hơn nữa là < 10^{-9}M; hoặc tốt hơn nữa là < 10^{-10}M; và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt liên kết albumin huyết thanh trong PBS với Kd < 10^{-5}M; tốt hơn là < 10^{-6}M; hoặc tốt hơn nữa là < 10^{-7}M. Các ví dụ về miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết với HGF, và các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh là được đề cập trong bản mô tả này (từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 56; xem các ví dụ).

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này ức chế liên kết của VEGF-A của người với VEGFR-2 của người trong PBS với giá trị IC_{50} < 10^{7}M, tốt hơn là 10^{8}M, tốt hơn nữa là 10^{9}M, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này ức chế liên kết của HGF của người với cMet của người trong PBS với giá trị IC_{50} < 10^{7}M, tốt hơn là 10^{8}M, tốt hơn nữa là 10^{9}M. Các ví dụ khác nhau về miền lặp lại ankyrin được thiết kế được chọn trong số các trình tự từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 37 được đề cập trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này bao gồm trình tự axit amin có trình tự axit amin tương đồng ở mức ít nhất là 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% với một miền lặp lại ankyrin được thiết kế được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 17 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 18 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 18. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 17 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 18 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 18, và các trình tự axit amin trong đó tối đa đến 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0 axit amin của trình tự từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ

ID NO: 21, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 17 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 18 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 18, được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 14 đến SEQ ID NO: 21, trong đó các axit amin đơn lẻ được thay thế bằng axit amin bất kỳ ở cùng vị trí khi sắp xếp thẳng hàng các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 14 đến SEQ ID NO: 21. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 17 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 18 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 18. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 17 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 18 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 18. Ngoài ra, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này của protein liên kết tái tổ hợp nêu trên tốt hơn là bao gồm trình tự axit amin có trình tự axit amin tương đồng ở mức ít nhất là 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% với một miền lặp lại ankyrin được thiết kế được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 37, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 25 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 26. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 37, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 25 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 26, và các trình tự axit amin trong đó tối đa đến 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0 axit amin của trình tự từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 37, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 25 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 26, được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 27, trong đó các axit amin đơn lẻ được thay thế bằng axit amin bất kỳ ở cùng vị trí khi sắp xếp thẳng hàng các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 27. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này bao

gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 37, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 25 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 26. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này có trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 37, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 25 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 26. Theo một phương án, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này của protein liên kết tái tổ hợp nêu trên lần lượt bao gồm trình tự axit amin mà có trình tự axit amin tương đồng ở mức ít nhất là 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% với một miền lặp lại ankyrin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 40 đến SEQ ID NO: 56, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 52, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50. Theo một phương án, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 40 đến SEQ ID NO: 56, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 52, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50, và các trình tự axit amin, trong đó tối đa đến 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0 axit amin của trình tự từ SEQ ID NO: 40 đến SEQ ID NO: 56, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 52, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50, được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ. Theo một phương án, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 42 đến SEQ ID NO: 51, trong đó các axit amin đơn lẻ được thay thế bằng axit amin bất kỳ ở cùng vị trí khi sắp xếp thẳng hàng các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 42 đến SEQ ID NO: 51. Theo một phương án, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 40 đến SEQ ID NO: 56, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 52, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50. Theo một phương án, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt có trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 40 đến SEQ ID NO: 56, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 52, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 48 đến

SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50. Theo một phương án, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này là tương đồng. Theo phương án khác nữa, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 3 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 4 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 6 hoặc SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 9, và các trình tự axit amin trong đó tối đa đến 4, 3, 2, 1, 0 axit amin của trình tự từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 3 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 4 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là của SEQ ID NO: 6 hoặc SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là của SEQ ID NO: 9, được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ. Theo một phương án, các liên kết polypeptit nêu trên bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 3 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 4 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là của SEQ ID NO: 6 hoặc SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là của SEQ ID NO: 9. Theo một phương án, tuỳ ý không có Gly Ser ở đầu tận cùng-N bên sườn của trình tự từ SEQ ID NO: 7 đến SEQ ID NO: 9 và/hoặc Gly Ser ở đầu tận cùng-C bên sườn của trình tự từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9. Theo một phương án, trình tự từ SEQ ID NO: 7 đến SEQ ID NO: 9 còn bao gồm Arg Ser ở đầu tận cùng-C (ví dụ trong SEQ ID NO: 97 và SEQ ID NO: 98). Theo một phương án, axit amin glyxin thứ hai-đến-đầu tận cùng C của các liên kết polypeptit nêu trên của trình tự từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 6 có thể hoán đổi thành arginin (ví dụ trong SEQ ID NO: 99 và SEQ ID NO: 100). Theo một phương án, các liên kết polypeptit liên kết miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trong protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế có trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 3 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 4 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 6 hoặc SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 9. Theo một phương án, các liên kết polypeptit nêu trên có trong protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế là tương đồng. Các ví dụ về các liên kết polypeptit này, các biến thể của chúng, và việc sử dụng các liên kết polypeptit này trong các protein liên kết tái tổ hợp được đề cập trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn là SEQ ID NO: 17 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 18 đến SEQ ID NO: 21, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 18, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 37, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 25 đến SEQ ID NO: 27, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 26, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt bao gồm trình tự axit amin của được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 40 đến SEQ ID NO: 56, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 52, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 50, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 50, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 2 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 3 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 4 đến SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 6 hoặc SEQ ID NO: 9, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 9.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này có tính đặc hiệu liên kết với HGF, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit, và trong đó protein liên kết tái tổ hợp nêu trên có thể liên kết đồng thời VEGF-A và HGF, tốt hơn nữa là VEGF-A, HGF, và albumin huyết thanh, tốt hơn nữa là VEGF-A của người, HGF của người và albumin huyết thanh của người. Theo một phương án, protein liên kết tái tổ hợp nêu trên có thể liên kết đồng thời hai phân tử albumin huyết thanh, tốt hơn nữa là hai phân tử albumin huyết thanh của người.

Thuật ngữ "thứ nhất", "thứ hai", "thứ ba", và tuỳ ý "thứ tư", được sử dụng trong "miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất", "miền lặp lại ankyrin được thiết

kế thứ hai", "miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba", và "miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ tư", không chỉ hoặc ngụ ý về sắp xếp vị trí bất kỳ của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này trong protein liên kết tái tổ hợp.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư mà được liên kết bằng các liên kết polypeptit. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này ở đầu tận cùng-N của miền lặp lại ankyrin được thiết kế đầu tận cùng-C và đầu tận cùng-C của hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này, có tính đặc hiệu liên kết với HGF, là đầu tận cùng-C của miền lặp lại ankyrin được thiết kế đầu tận cùng-N và đầu tận cùng-N của hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại. Theo một phương án, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này, lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh, một là đầu tận cùngN và một là đầu tận cùng-C của hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại, hoặc các miền này là đầu tận cùng-N của hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại, tốt hơn nữa là các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này một là đầu tận cùng-N và một là đầu tận cùng-C của hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại. Theo một phương án, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba nêu trên là đầu tận cùng-N của ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ tư nêu trên là đầu tận cùng-C của ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại, miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này là đầu tận cùng-C của miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba nêu trên và đầu tận cùng-N của miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này, và miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này là đầu tận cùng-C của miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này và đầu tận cùng-N của miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ tư nêu trên.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này có tính đặc hiệu liên kết với HGF, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit. Theo một

phương án, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư này là theo thứ tự (từ đầu tận cùng-N đến đầu tận cùng-C) miền thứ nhất-miền thứ hai-miền thứ nhất-miền thứ tư, miền thứ ba-miên thứ tưmiền thứ hai-miền thứ nhất, miền thứ tư-miền thứ hai-miền thứ nhất-miền thứ ba, hoặc miền thứ tư-miền thứ ba-miền thứ hai-miền thứ nhất, tốt hơn nữa là miền thứ nhất-miền thứ hai-miền thứ nhất-miền thứ tư, hoặc miền thứ tư-miền thứ hai-miền thứ nhất-miền thứ ba, tốt hơn nữa là miền thứ nhất-miền thứ hai-miền thứ nhất-miền thứ tư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này có tính đặc hiệu liên kết với HGF, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh, trong đó protein liên kết tái tổ hợp nêu trên liên kết VEGF-A, tốt hơn là VEGF-A của người, với EC_{50} < 10^{-7}M, tốt hơn là < 10^{-8} M, tốt hơn nữa là < 10^{-9}M, tốt hơn nữa là < 10^{10}M.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 18, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 26, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 9.

Theo một phương án sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 18, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này bao gồm

trình tự axit amin của SEQ ID NO: 26, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 9, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được sắp xếp (từ đầu tận cùng-N đến đầu tận cùng-C) như sau: SEQ ID NO: 50 – SEQ ID NO: 9 – SEQ ID NO: 26 – SEQ ID NO: 9 – SEQ ID NO: 18 – SEQ ID NO: 9 – SEQ ID NO: 50.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này có tính đặc hiệu liên kết với HGF, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 9, và trong đó protein liên kết tái tổ hợp nêu trên liên kết VEGF-A, và/hoặc HGF, tốt hơn là VEGF-A với EC_{50} thấp hơn, nghĩa là EC_{50} tốt hơn so với protein liên kết tái tổ hợp trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này được liên kết bằng các liên kết polypeptit lần lượt bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 6. Các ví dụ về ảnh hưởng của liên kết đối với EC_{50} được đề cập trong Ví dụ 8 và thuật ngữ "EC_{50} thấp hơn" là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Tốt hơn là, thuật ngữ "EC_{50} thấp hơn" nghĩa là giá trị EC_{50} được cải thiện 1,1 lần, tốt hơn nữa là 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0 lần.

Theo một phương án sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này có tính đặc hiệu liên kết với HGF, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh, trong đó protein liên kết tái tổ hợp liên kết VEGF-A, và/hoặc HGF, tốt hơn là VEGF-A với EC_{50} thấp hơn, nghĩa là EC_{50} tốt hơn so với protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Các ví dụ được đề cập trong Ví dụ 8.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin mà có tương đồng trình tự axit amin ở mức ít nhất là 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 179, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 158, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 149, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 140, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 134.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 179, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 158, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 149, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 140, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 134, trong đó tối đa đến 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, hoặc 0 axit amin được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ.

Theo phương án bất kỳ của sáng chế, sáng chế đề cập đến miền lặp lại ankyrin được thiết kế hoặc protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng ít nhất là 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% với trình tự axit amin đã đưa ra, các axit amin không tương đồng có thể ở vị trí bất kỳ của miền lặp lại ankyrin được thiết kế hoặc protein liên kết tái tổ hợp.

Tương tự, phương án bất kỳ của sáng chế đề cập đến miền lặp lại ankyrin được thiết kế hoặc protein liên kết tái tổ hợp trong đó tối đa đến 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, hoặc 0 axit amin được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ, các axit amin đã hoán đổi có thể ở vị trí bất kỳ của miền lặp lại ankyrin được thiết kế.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 179, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 158, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 149, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 140, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 134.

Sáng chế cụ thể đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134, trong đó tối đa đến 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, hoặc 0 axit amin được hoán đổi bằng axit amin bất kỳ.

Sáng chế cụ thể còn đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 179, tốt hơn là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 158, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 149, tốt hơn nữa là từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 140, tốt hơn nữa là SEQ ID NO: 134.

Được ưu tiên là SEQ ID NO: 134. Được ưu tiên là protein liên kết tái tổ hợp, trong đó trình tự axit amin là SEQ ID NO: 134. Được ưu tiên là protein, trong đó trình tự axit amin là SEQ ID NO: 134. Được ưu tiên là protein liên kết tái tổ hợp có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134.

Nhiều đặc tính làm cho SEQ ID NO: 134 thành protein liên kết tái tổ hợp được ưu tiên của sáng chế. Protein này bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh lần lượt có trình tự của SEQ ID NO: 50, mà thể hiện các tính chất về độ ổn định khi bảo quản được cải thiện (xem Ví dụ 9; Fig. 2) so với miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh đã biết. Protein này bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, bất ngờ dẫn đến các tính chất dược động học được cải thiện (Ví dụ 5 và Ví dụ 6, Figures 3 và Fig. 4). Hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh là bên sườn của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại dẫn đến nhận thấy có các

tính chất dược động học tốt nhất (Ví dụ 6). Các miền lặp lại ankyrin được thiết kế và có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A và HGF cũng như sắp xếp cấu trúc của chúng được chọn sao cho làm tối đa hoạt tính của hợp chất này (Ví dụ 8). Các miền lặp lại ankyrin được thiết kế được nối với nhau bằng cách sử dụng liên kết giàu-PT, bất ngờ dẫn đến hoạt tính được cải thiện của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế đơn lẻ (Ví dụ 8) và bất ngờ dẫn đến các tính chất dược động học được cải thiện (Ví dụ 5).

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai này có tính đặc hiệu liên kết với HGF, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này lần lượt có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư nêu trên được liên kết bằng các liên kết polypeptit, và trong đó protein liên kết tái tổ hợp nêu trên biểu hiện gia tăng thời gian bán thải, tốt hơn là gia tăng thời gian bán thải ít nhất 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, hoặc 45%, so với protein liên kết tái tổ hợp không có miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh thứ tư nêu trên. Các ví dụ về gia tăng thời gian bán thải được đề cập trong Ví dụ 5 và Ví dụ 6 và Fig. 3 và Fig. 4.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một axit nucleic mã hoá trình tự axit amin của miền lặp lại ankyrin được thiết kế hoặc protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế, tốt hơn nữa là protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một axit nucleic mã hoá trình tự axit amin của protein liên kết tái tổ hợp bất kỳ của sáng chế bao gồm ít nhất hai, tốt hơn nữa là bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến một axit nucleic mã hoá trình tự axit amin của protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế. Ngoài ra, sáng chế đề cập đến các vật truyền bao gồm axit nucleic bất kỳ của sáng chế. Các axit nucleic là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực. Trong các ví dụ, các axit nucleic được sử dụng để sản xuất các miền lặp lại ankyrin được thiết kế hoặc các protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế ở *E. coli*.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa protein liên kết tái tổ hợp và/hoặc miền lặp lại ankyrin được thiết kế của sáng chế, hoặc axit nucleic mã hoá protein liên kết tái tổ hợp và/hoặc miền lặp lại ankyrin được thiết kế của sáng chế, và tuỳ ý chất mang và/hoặc chất pha loãng dược dụng.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa protein liên kết tái tổ hợp hoặc axit nucleic mã hoá protein liên kết tái tổ hợp, và tuỳ ý chất mang và/hoặc chất pha loãng dược dụng.

Các chất mang và/hoặc chất pha loãng dược dụng là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực và được mô tả chi tiết dưới đây. Ngoài ra, các tác giả xem xét một chế phẩm chẩn đoán bao gồm một hoặc nhiều protein trong số các protein liên kết tái tổ hợp và/hoặc miền lặp lại ankyrin được thiết kế, và/hoặc các axit nucleic nêu trên, cụ thể là các protein liên kết tái tổ hợp.

Dược phẩm chứa protein liên kết tái tổ hợp, và/hoặc miền lặp lại ankyrin được thiết kế, và/hoặc một axit nucleic như được mô tả trong bản mô tả này và chất mang, tá dược hoặc chất làm ổn định dược dụng, ví dụ, như được mô tả trong: Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed., 1980. Chất mang, tá dược hoặc chất làm ổn định thích hợp đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực là nước muối, dung dịch Ringer's, dung dịch dextroza, dung dịch Hank's, dầu không bay hơi, etyl oleat, 5% dextroza trong nước muối, các chất làm tăng cường độ đẳng trương và độ ổn định hoá học, các chất đệm và các chất bảo quản. Các chất mang thích hợp khác bao gồm chất mang bất kỳ mà bản thân nó không gây sản sinh các kháng thể có hại đối với cá thể sử dụng chế phẩm này như các protein, các polysacarit, các axit polylactic, các axit polyglycolic, các axit amin polyme và các đồng polyme axit amin. Dược phẩm cũng có thể là chế phẩm phối hợp, bao gồm chất có hoạt tính bổ sung, như chất chống ung thư hoặc chất chống tạo mạch hoặc hợp chất có hoạt tính sinh học bổ sung.

Một phương án của sáng chế đề cập đến việc sử dụng protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế bao gồm ít nhất hai, tốt hơn là bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh để sản xuất dược phẩm, trong đó protein liên kết tái tổ hợp này biểu hiện tăng thời gian bán thải, tốt hơn là tăng thời gian bán thải ở mức ít nhất là 5%, tốt hơn là 10%, 15%, 20%, 25%,

30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, hoặc 250%, so với protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh.

Theo một phương án, dược phẩm chứa ít nhất một protein liên kết tái tổ hợp như được mô tả trong bản mô tả này và chất diện hoạt như chất diện hoạt không ion, chất đệm như là phosphat, và đường như sucroza. Theo một phương án, chế phẩm này bao gồm các protein liên kết tái tổ hợp nêu trên và PBS.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến việc sử dụng dược phẩm, hoặc protein liên kết tái tổ hợp theo sáng chế để điều trị bệnh. Nhằm mục đích này, dược phẩm, hoặc protein liên kết tái tổ hợp theo sáng chế được sử dụng cho bệnh nhân cần điều trị này, với lượng hữu hiệu điều trị. Việc sử dụng có thể bao gồm sử dụng qua da, qua đường miệng và ngoài đường tiêu hoá. Đường dùng thông thường là ngoài đường tiêu hoá. Trong sử dụng ngoài đường tiêu hoá, thuốc theo sáng chế được bào chế ở dạng đơn vị phân liều dạng tiêm như là dung dịch, hỗn dịch hoặc nhũ tương, kết hợp với các tá dược dược dụng nêu trên. Liều lượng và cách dùng sẽ tuỳ thuộc vào cá thể cần điều trị và bệnh cụ thể.

Ngoài ra, các tác giả xem xét dược phẩm hoặc protein liên kết tái tổ hợp bất kỳ nêu trên để điều trị một rối loạn bệnh lý.

Dược phẩm của sáng chế có thể được sử dụng ví dụ ngoài đường tiêu hoá. Trong sử dụng ngoài đường tiêu hoá, thuốc của sáng chế sẽ được bào chế ở dạng đơn vị phân liều dạng tiêm như dung dịch, hỗn dịch hoặc nhũ tương, kết hợp với các tá dược dược dụng nêu trên. Liều lượng và cách dùng sẽ tuỳ thuộc vào cá thể cần điều trị và bệnh cụ thể. Theo một phương án, protein liên kết tái tổ hợp nêu trên hoặc dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này được dùng qua đường tĩnh mạch. Để sử dụng ngoài đường tiêu hoá, protein liên kết tái tổ hợp hoặc dược phẩm nêu trên có thể tiêm dưới dạng liều cao hoặc tiêm truyền chậm với lượng hữu hiệu điều trị.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý, phương pháp này bao gồm bước sử dụng, cho bệnh nhân cần điều trị này, lượng hữu hiệu điều trị của protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý, phương pháp này bao gồm bước sử dụng, cho bệnh nhân cần điều trị này, lượng hữu hiệu điều trị của của

dược phẩm của sáng chế. Ví dụ 14 (Fig. 10) minh hoạ tính hữu ích của việc sử dụng protein liên kết tái tổ hợp có trình tự của SEQ ID NO: 134 để điều trị bệnh ung thư. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến việc sử dụng dược phẩm của sáng chế để điều trị bệnh. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm để sử dụng trong điều trị bệnh tật.

"Tình trạng bệnh lý" (hoặc rối loạn bệnh) có thể là tình trạng đặc trưng bởi sự tạo mạch không thích hợp. Tình trạng bệnh lý có thể là tình trạng tăng sinh. Các ví dụ về các tình trạng bệnh lý thích hợp để điều trị bao gồm các rối loạn tự miễn, các rối loạn viêm nhiễm, các bệnh võng mạc (cụ thể là bệnh võng mạc tăng sinh), các rối loạn thoái hoá thần kinh, các bệnh nhiễm khuẩn, và các bệnh ung thư. Protein bất kỳ trong số các protein liên kết tái tổ hợp được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng để bào chế thuốc nhằm điều trị rối loạn bệnh này, cụ thể là rối loạn bệnh được chọn trong nhóm gồm: rối loạn tự miễn, rối loạn viêm nhiễm, bệnh võng mạc và bệnh ung thư. Sáng chế cụ thể đề cập đến phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý, phương pháp này bao gồm bước sử dụng, cho bệnh nhân cần điều trị này, lượng hữu hiệu điều trị của của protein liên kết tái tổ hợp hoặc dược phẩm nêu trên của sáng chế. Theo một vài phương án, tình trạng bệnh lý nêu trên là bệnh ung thư. Thuật ngữ "bệnh ung thư", như được sử dụng trong bản mô tả này, chỉ trạng thái hoặc tình trạng bất thường các tế bào hoặc mô đặc trưng bởi sự tăng trưởng tế bào tăng sinh nhanh chóng hoặc khối u. Theo nghĩa cụ thể hơn, thuật ngữ đề cập đến bệnh ung thư. Theo nghĩa cụ thể hơn nữa, thuật ngữ đề cập đến bệnh ung thư thận và/hoặc bệnh ung thư dạ dày và/hoặc đa u tuỷ. Thuật ngữ "lượng hữu hiệu điều trị" là lượng đủ để tạo ra tác dụng mong muốn ở bệnh nhân.

Cụ thể là, sáng chế đề cập đến việc điều trị tình trạng bệnh lý bằng cách sử dụng dược phẩm của sáng chế, trong đó tình trạng bệnh lý này là bệnh ung thư.

Việc sử dụng protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế hoặc các dược phẩm nêu trên để điều trị bệnh ung thư cũng có thể kết hợp với liệu pháp khác bất kỳ đã biết trong lĩnh vực. Thuật ngữ "sử dụng kết hợp với", như được sử dụng trong bản mô tả này, chỉ sử dụng đồng thời theo một phác đồ đã xác định. Việc sử dụng này bao gồm sử dụng đồng thời các hợp chất khác nhau cũng như sử dụng vào các thời điểm khác nhau các hợp chất khác nhau (ví dụ hợp chất A được sử dụng một lần và hợp chất B

được dùng vài lần sau đó, hoặc ngược lại, hoặc cả hai hợp chất được dùng đồng thời và một trong hai hợp chất này cũng được dùng ở giai đoạn sau đó).

Việc sử dụng protein tái tổ hợp để điều trị bệnh bao gồm tăng tạo mạch bệnh lý cũng được các tác giả xem xét. Thuật ngữ "tăng tạo mạch bệnh lý" chỉ sự tạo thành và tăng trưởng của các mạch máu trong quá trình duy trì và tiến triển của một vài tình trạng bệnh lý.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến việc sử dụng protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế để sản xuất thuốc mà được sử dụng nhằm điều trị tình trạng bệnh lý, tốt hơn là bệnh ung thư, tốt hơn nữa là bệnh ung thư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến việc sử dụng dược phẩm của sáng chế để sản xuất thuốc mà được sử dụng nhằm điều trị tình trạng bệnh lý, mà có thể là bệnh ung thư, cụ thể là bệnh ung thư.

Các chế phẩm để sử dụng *in vivo* cần phải vô trùng hoặc vô khuẩn. Sự vô trùng hoặc vô khuẩn dễ dàng đạt được bằng cách lọc qua màng lọc vô khuẩn.

Thuật ngữ "được chọn trong nhóm gồm" liên quan một lựa chọn suy nhất theo sáng chế có nghĩa là lựa chọn cụ thể đó. Ví dụ, theo một phương án, "sáng chế đề cập đến một protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin SEQ ID NO: 134", nghĩa là "sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134".

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm miền lặp lại bất kỳ trong số các miền lặp lại nêu trên. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 179 nêu trên.

Sáng chế không bị hạn chế đến các phương án cụ thể được mô tả trong các Ví dụ thực hiện sáng chế. Các nguồn khác có thể được sử dụng và xử lý theo quy trình chung mô tả dưới đây.

Một số tài liệu được viện dẫn trong bản mô tả này. Nội dung của các tài liệu này được viện dẫn để tham khảo.

Bản mô tả này đề cập đến một số các trình tự axit amin trong số trình tự axit amin trong danh mục trình tự "P014_Sequence_Protocol.txt" và các trình tự axit amin của tài liệu trình tự này được viện dẫn ở đây để tham khảo.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Tất cả các chất chuẩn và thuốc thử bộc lộ trong bản mô tả này là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực, và có bán sẵn hoặc có thể được điều chế bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết.

Nguyên liệu

Các hoá chất được mua của Sigma-Aldrich (Thuỵ Sỹ). Các oligonucleotit của Microsynth (Thuỵ Sỹ). Trừ khi có quy định khác, các ADN polymeraza, các enzym giới hạn và các chất đệm là của New England Biolabs (Mỹ) hoặc Thermo Fisher Scientific Fermentas (Lithuania). Chủng tách dòng và sản sinh protein là *E. coli* XL1-blue (Stratagene, Mỹ) hoặc BL21 (Novagen, Mỹ). VEGF-A tái tổ hợp (người, chuột nhắt, chuột cống), VEGF-C, PDGF-AB, và HGF (người, khỉ cynomolgus, chuột nhắt) là của R&D Systems (Biotechne; Minneapolis, Mỹ), Peprotech (Rocky Hill, Mỹ), Sino Biological (Bắc Kinh, Trung Quốc), ReliaTech (Wolfenbüttel, Đức) hoặc được sản xuất trong tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc hoặc ở *Pichia pastoris* và được tinh chế theo quy trình chuẩn. Albumin huyết thanh của các loài khác nhau là của Sigma-Aldrich, Innovative Research (Novi, Mỹ), CSL Behring (Thuỵ Sỹ), hoặc được lấy từ các động vật trực tiếp bằng các phương pháp chuẩn. VEGF-A biotin hoá hoặc HGF thu được bằng phương pháp hoá học bằng cách ngẫu hợp gốc biotin với các amin bậc một của protein bằng cách sử dụng các thuốc thử biotin hoá và phương pháp chuẩn (Thermo Fisher Scientific Inc., Mỹ). Các kháng thể là của Thermo Fisher Scientific hoặc QIAgen (Đức), hoặc được tạo ra bằng các quy trình gây miễn dịch và lai tạo chuẩn ở chuột hoặc thỏ, quy trình đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực. Các thuốc thử nuôi cấy tế bào là của Lonza (Thuỵ Sỹ), Roche (Thuỵ Sỹ), Thermo Fisher Scientific, và Promocell (Đức).

Sinh học phân tử

Trừ khi có quy định khác, các phương pháp được tiến hành theo quy trình đã mô tả trong tài liệu: Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory 1989, New York của Sambrook J., Fritsch E.F. và Maniatis T.

Miền lặp lại ankyrin được thiết kế, các thư viện và chọn lọc

Các phương pháp tạo ra các thư viện protein lặp lại ankyrin được thiết kế, các ví dụ về các thư viện protein lặp lại ankyrin được thiết kế, và phương pháp chọn lọc các protein lặp lại ankyrin được thiết kế từ các thư viện của các protein lặp lại ankyrin được thiết kế được mô tả trong: WO 2002/020565; WO 2010/060748; WO 2012/069654; WO 2012/069655; WO 2014/001442; Binz và các đồng tác giả 2004, đã viện dẫn trong bản mô tả này.

Ví dụ 1: Chọn lọc, biểu hiện, tinh chế, và phân tích các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A, HGF, hoặc albumin huyết thanh

Bằng cách sử dụng phương pháp bộc lộ ribosom (Binz và các đồng tác giả, 2004, đã viện dẫn trong bản mô tả này) chọn lọc các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A, HGF, hoặc albumin huyết thanh từ các thư viện tổ hợp bằng các phương pháp được mô tả trong: WO 2010/060748 để tạo ra các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A, và bằng các phương pháp được mô tả trong: WO 2014/191574 để tạo ra các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF, và bằng các phương pháp được mô tả trong: WO 2012/069654 để tạo ra các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh. Đánh giá khả năng liên kết của các clon đã chọn đối với các đích đặc hiệu (tương ứng là VEGF-A, HGF, hoặc albumin huyết thanh) và các đích không đặc hiệu (ví dụ MBP, protein liên kết maltoza của *E. coli*) bằng ELISA dịch chiết thô, cho thấy là chọn lọc thành công hàng trăm miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết tương ứng với VEGF-A, HGF, hoặc albumin huyết thanh, trong mỗi lần chọn lọc đích tương ứng. Ví dụ, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trình tự từ SEQ ID NO: 12 đến SEQ ID NO: 22 cấu thành các trình tự axit amin của các miền lặp lại ankyrin có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A, các miền lặp lại ankyrin được thiết kế của trình tự từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 37 cấu thành các trình tự axit amin của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF, và các miền lặp lại ankyrin được thiết

kế có trình tự từ SEQ ID NO: 40 đến SEQ ID NO: 56 cấu thành các trình tự axit amin của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh.

Các miền lặp lại ankyrin được thiết kế này có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A, HGF, hoặc albumin huyết thanh, và các miền lặp lại ankyrin được thiết kế không có tính đặc hiệu liên kết đã biết là đối chứng âm tính (nghĩa là các protein #10 và #11) được tách dòng vào pQE (QIAgen, Đức) dựa trên vật truyền biểu hiện cung cấp nhãn-His đầu tận cùng-N để tạo thuận lợi cho quá trình tinh chế protein đơn giản. Các protein này được sản xuất và tinh chế bằng các phương pháp đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực như được mô tả ví dụ, trong: WO 2010/060748.

Ví dụ 2: Xác định đặc tính của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế bằng cách sử dụng phương pháp cộng hưởng plasmon bề mặt

SPR được đo bằng cách sử dụng thiết bị ProteOn (BioRad) và tiến hành đo theo các quy trình chuẩn đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực. Các giá trị Kd đo được đối với các protein được chọn lọc được liệt kê trong từ Bảng 1 đến Bảng 3.

Bảng 1: *Các ví dụ về hằng số phân ly của miền lặp lại ankyrin được thiết kế liên kết với VEGF-A của người*

Protein #*	Kd [pM]
12	94
13	96
16	141

* protein #12, #13, và #16 trong bảng này biểu thị các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trình tự axit amin tương ứng của SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO:13 và SEQ ID NO:16, và thêm nhãn-His ở đầu tận cùng-N (SEQ ID NO: 1).

Các giá trị hằng số phân ly VEGF-A tương tự thu được đối với các protein #14, #15, và từ #17 đến #22.

Bảng 2: *Các ví dụ về hằng số phân ly của miền lặp lại ankyrin được thiết kế liên kết với HGF của người*

Protein #*	Kd [pM]

23	16
24	163
25	66
26	51
27	129
28	26
29	25

* Protein từ #23 đến #29 trong bảng này biểu thị miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trình tự axit amin tương ứng của từ SEQ ID NO: 23 đến SEQ ID NO: 29, và thêm nhãn-His ở đầu tận cùngN (SEQ ID NO: 1).

Thu được các giá trị hằng số phân ly tương tự đối với các Protein từ #30 đến #37.

Bảng 3: *Các ví dụ về hằng số phân ly của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế liên kết với HSA của người*

Protein #*	Kd [nM]
44	26
45	13
46	22
47	27
48	20
49	15
50	27
51	14
52	6
54	11
55	15

* Protein từ #44, đến #55 trong bảng này biểu thị các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trình tự axit amin tương ứng của SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ

ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, và SEQ ID NO: 55, và thêm nhãn-His ở đầu tận cùng-N (SEQ ID NO: 1).

Thu được các giá trị hằng số phân ly albumin huyết thanh của người tương tự đối với các protein từ #40 đến #43, #53, #56, và #57.

Ví dụ 3: Thử nghiệm liên kết cạnh tranh và thử nghiệm liên kết cạnh tranh thụ thể

Xác định đặc tính của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A, HGF, hoặc albumin huyết thanh, tương ứng bằng các thử nghiệm cạnh tranh. Các thử nghiệm này là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Đối với các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A, sử dụng kỹ thuật thử nghiệm miễn dịch enzym "sandwich" định lượng theo nhà sản xuất (bộ kit VEGF-A Quantikine DVE00, R&D Systems). Kháng thể đơn dòng đặc hiệu với VEGF-A được bao phủ trước lên đĩa vi chuẩn độ. Thêm các chất chuẩn VEGF-A và hỗn hợp gồm VEGF-A (20 pM) và protein #18, #19, hoặc #20 ở các nồng độ khác nhau vào các giếng và VEGF-A tự do có mặt (nghĩa là không liên kết với miền lặp lại ankyrin được thiết kế) được liên kết với kháng thể cố định. Sau khi rửa sạch các chất không liên kết bất kỳ, thêm kháng thể đa dòng liên kết-enzym đặc hiệu với VEGF-A vào các giếng. Sau khi rửa để loại bỏ các chất thử kháng thể-enzym không liên kết, thêm dung dịch cơ chất vào các giếng và hiện màu theo tỷ lệ với lượng VEGF-A đã liên kết trong bước đầu tiên. Ngừng hiện màu và đo cường độ màu. Trong thử nghiệm này, các protein lặp lại ankyrin được thiết kế được thử thể hiện mức độ ức chế VEGF-A mạnh. Tính toán các giá trị IC_{50} từ các đường cong chuẩn độ thu được như mô tả ở trên bằng cách sử dụng phần mềm Graph Pad Prism và các quy trình chuẩn đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Đối với các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết với HGF, tiến hành thử nghiệm cạnh tranh thụ thể cMet. Cho thử nghiệm này, 5 nM thụ thể cMet của người trong PBS được cố định trên các đĩa Maxisorp qua đêm ở 4°C. Sau khi rửa bằng PBS 0,05% TWEEN 20, phong bế đĩa trong 2 giờ bằng cách lắc ở 300 vòng/phút bằng cách sử dụng PBS có chứa 0,05% TWEEN 20 và 0,25% Casein ở nhiệt độ trong phòng. Ủ sơ bộ nồng độ hằng định 5 nM HGF của người trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng với 1000 nM-1 pM các protein #23, #26, #28, và #29 (các dịch pha loãng 1:4) trên đĩa

pha loãng trong PBS 0,05% TWEEN 20. Sau khi rửa đĩa ELISA bằng PBS 0,05% TWEEN, chuyển các mẫu đã ủ sơ bộ sang đĩa ELISA và ủ đĩa này trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng kèm theo lắc ở 300 vòng/phút. Sau khi rửa bằng PBS 0,25% TWEEN, thêm vào 200 ng/ml kháng thể kháng HGF của người trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng kèm theo lắc ở 300 vòng/phút. Sau khi rửa bằng PBS 0,05% TWEEN, thêm vào 100 ng/ml kháng thể kháng-HGF đa dòng được tiếp hợp HRP trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng kèm theo lắc ở 300 vòng/phút. Phát hiện bằng cách sử dụng POD xanh BM được pha loãng 1:3 (Roche). Dừng phản ứng màu sau 15 phút bằng cách cho thêm dung dịch H_2SO_4 1 M. Đọc kết quả ở A450 sử dụng A620 làm bước sóng tham chiếu.

Các giá trị IC_{50} ví dụ được nêu trong Bảng 4 và Bảng 5. Các giá trị IC_{50} đối với VEGF-A tương tự thu được với các protein #12 to #17, #21, các giá trị IC_{50} đối với HGF tương tự thu được với các protein #24, #25, #27, và từ #30 đến #37.

Bảng 4: *Ức chế liên kết VEGF-A của một kháng thể bằng các miền lặp lại ankyrin được thiết kế (các giá trị IC_{50} trung bình)*

Protein #*	IC_{50} [pM]
#18	13
#19	13
#20	4

* Protein từ #18 đến #20 trong bảng này biểu thị các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trình tự axit amin tương ứng từ SEQ ID NO: 18 đến SEQ ID NO: 20, và thêm nhãn-His ở đầu tận cùng-N (SEQ ID NO: 1).

Bảng 5: *Ức chế liên kết của HGF với cMET bằng các miền lặp lại ankyrin được thiết kế (các giá trị IC_{50} trung bình)*

Protein #*	IC_{50} [pM]
23	915
26	623
28	955
29	1357

* protein #23, #26, #28, và #29 trong bảng này biểu thị các miềnlặp lại ankyrin được thiết kế có trình tự axit amin tương ứng của

SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, và SEQ ID NO: 29, và thêm nhãn-His ở đầu tận cùng-N (SEQ ID NO: 1).

Ví dụ 4: tạo ra các protein liên kết tái tổ hợp, cụ thể là các protein tái tổ hợp bao gồm hai, ba hoặc bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế, và các protein lặp lại khác

ADN mã hoá các miền lặp lại ankyrin được thiết kế hoặc các protein liên kết tái tổ hợp được tạo ra bằng các cách di truyền đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Các protein liên kết tái tổ hợp được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 58 đến SEQ ID NO: 133, có thêm SEQ ID NO: 1 hoặc các axit amin GS ở đầu tận cùng N hoặc các protein liên kết tái tổ hợp được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 179, hoặc các miền lặp lại ankyrin được thiết kế được chọn trong nhóm gồm các trình tự axit amin từ SEQ ID NO: 10 đến SEQ ID NO: 57, có thêm SEQ ID NO: 1 hoặc các axit amin GS ở đầu tận cùng N, được biểu hiện trong bào tương của *Escherichia coli* bằng cách sử dụng các kỹ thuật tiêu chuẩn có sử dụng hệ biểu hiện pQE của Qiagen (Đức). Nếu các axit amin GS là ở đầu tận cùng N, gốc Met được mã hoá bổ sung bởi vật truyền biểu hiện được cắt bỏ một cách có hiệu quả trong bào tương của *E. coli* từ polypeptit đã biểu hiện do Met khởi đầu tiếp theo là gốc Gly kích thước nhỏ (nghĩa là axit amin ở vị trí 1 của trình tự từ SEQ ID NO: 134 đến SEQ ID NO: 179). Phân giải các tế bào bằng cách sử dụng "French press", và tinh chế các protein đến gần đồng nhất từ dịch chiết tế bào thô bằng cách sử dụng các kỹ thuật sắc ký chuẩn đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực.

Ví dụ 5. Cải thiện các tính chất dược động học bằng cách tăng dần số lượng các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh có chứa trong protein liên kết tái tổ hợp – các nghiên cứu dược động học trên chuột nhắt.

Cho các nghiên cứu dược động học trên chuột nhắt các protein #57, #62, #63, #64, #68, #73, #74, #82, #83, #97, #109, và #110 (các protein tương ứng với SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 109, và SEQ ID NO: 110, có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N) được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4, được đánh dấu phóng xạ như mô tả (Cancer

Res.70, 1595-1605, 2010 của Zahnd, C., Kawe, M., Stumpp, M.T., de Pasquale, C., Tamaskovic, R., Nagy-Davidescu, G., Dreier, B., Schibli, R., Binz, H.K., Waibel, R., Plückthun, A.) và được cho dùng ở nồng độ 10 µg trong 100 µl dưới dạng tiêm tĩnh mạch liều cao vào tĩnh mạch đuôi của chuột nhắt BALB/c giống cái. Thu gom các mẫu huyết thanh từ mỗi chuột ở các thời điểm khác nhau và xác định hoạt tính phóng xạ tích luỹ bằng máy đếm nhấp nháy-gamma.

Trong các thử nghiệm này, các protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh đồng nhất biểu hiện các tính chất dược động học được cải thiện so với các cấu trúc tương tự chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (Fig. 3). Ví dụ, so sánh protein #57, mà bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh duy nhất (SEQ ID NO: 57, bao gồm SEQ ID NO: 51 + polypeptit đầu tận cùng-C) với các protein #62 và #63, mà bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (hai SEQ ID NO: 51, được liên kết bằng GS- (SEQ ID NO: 63) hoặc các liên kết polypeptit giàu-PT (SEQ ID NO: 62)) cho thấy là việc có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh dẫn đến % ID cao hơn ví dụ, ở 24 giờ (+57% GS; +59% PT), 48 giờ (+76% GS; +82% PT) hoặc 72 giờ (+79% GS; +94% PT) sau khi tiêm, và dẫn đến thời gian bán thải được cải thiện (+38% GS; +48% PT) so với protein chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh duy nhất (Fig. 3a). Cụ thể là, việc sử dụng liên kết giàu-PT, cụ thể là SEQ ID NO: 9, dẫn đến các tính chất dược động học được cải thiện (Fig. 3a). Ba ví dụ dưới đây cho thấy là phương pháp cải thiện các tính chất dược động học này bằng cách có hai (thay vì một) miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh có trong protein, có thể sử dụng đối với các protein khác nhau bao gồm các miền lặp lại ankyrin được thiết kế khác nhau. Ví dụ, so sánh profin dược động học của protein #64, bao gồm SEQ ID NO: 22 (miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với một đích khác không phải là albumin huyết thanh) và SEQ ID NO: 51 (miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh), với các protein #73 và #74, bao gồm lần lượt SEQ ID NO: 22 và hai SEQ ID NO: 51 (Protein #73 có các SEQ ID NO: 51 bên sườn SEQ ID NO: 22, và

protein #74 có các SEQ ID NO: 51 ở đầu tận cùng-N của SEQ ID NO: 22) cho thấy là có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh dẫn đến % ID cao hơn ví dụ, ở 24 giờ (+62% đầu tận cùng-N; +89% bên sườn), hoặc 48 giờ (+136% đầu tận cùng-N; +175% bên sườn) sau khi tiêm, và dẫn đến thời gian bán thải được cải thiện (+>63% đối với cả hai trường hợp đầu tận cùng-N hoặc bên sườn) so với protein chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế duy nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (Fig. 3b). Tương tự, so sánh profin dược động học của protein #82, bao gồm hai SEQ ID NO: 11 (miền lặp lại ankyrin được thiết kế không có tính đặc hiệu liên kết đã biết) và một SEQ ID NO: 51 (miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh), với protein #109, bao gồm hai SEQ ID NO: 11 và hai SEQ ID NO: 51 (đầu tận cùngN), cho thấy là có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh dẫn đến % ID cao hơn ví dụ, ở 24 giờ (+12%), hoặc 48 giờ (+35%) sau khi tiêm, và dẫn đến thời gian bán thải được cải thiện (+71%) so với protein chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế duy nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (Fig. 3c). Ngoài ra, so sánh profin dược động học của protein #83, bao gồm SEQ ID NO: 38 và SEQ ID NO: 39 (các miền lặp lại ankyrin được thiết kế đều có tính đặc hiệu liên kết đối với một đích khác không phải là albumin huyết thanh) và SEQ ID NO: 50 (miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh), với các protein #110, bao gồm lần lượt SEQ ID NO: 38 và SEQ ID NO: 39 và hai SEQ ID NO: 50 (bên sườn SEQ ID NO: 38 và SEQ ID NO: 39), cho thấy là có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh dẫn đến % ID cao hơn ví dụ, ở 24 giờ (+198%), 48 giờ (+198%), hoặc 72 giờ (+228%) sau khi tiêm, và dẫn đến thời gian bán thải được cải thiện (+19%) so với protein chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế duy nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (Fig. 3d). Ngoài ra, protein #97 biểu các tính chất dược động học được cải thiện đáng kể so với protein #68, ví dụ thời gian bán thải tương ứng là 21 và 16 giờ, kết quả này cho thấy là có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh là có lợi hơn so với chỉ có một miền này.

Các kết quả này bất ngờ cho thấy là việc sử dụng hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh thay vì một miền trong

protein liên kết tái tổ hợp dẫn đến các tính chất dược động học được cải thiện, như được đề cập tiếp trong Ví dụ 6.

Ví dụ 6. Cải thiện các tính chất dược động học bằng cách tăng dần số lượng các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh có chứa trong protein liên kết tái tổ hợp – các nghiên cứu dược động học trên khỉ cynomolgus.

Cho các nghiên cứu dược động học trên khỉ cynomolgus các protein #57, #62, và #97 (các protein tương ứng với SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 62, và SEQ ID NO: 97, có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N) và protein #134 (protein tương ứng với SEQ ID NO: 134), được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4, được sử dụng bằng cách truyền tĩnh mạch cho khỉ cynomolgous trong 30 phút ở mức liều một đích nằm trong khoảng từ 0,5-100 mg/kg. Lấy mẫu máu trước khi tiêm và lấy lại vào các thời điểm được chọn, ví dụ, 5 phút, 10 phút, 0,5 giờ, 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ, 12 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 120 giờ và 168 giờ sau khi tiêm xong (nghĩa là sau khi tiêm). Để yên các mẫu máu này ở nhiệt độ trong phòng và ly tâm để lấy huyết thanh, tiếp đó bảo quản ở -80°C cho đến khi phân tích. Xác định các thông số dược động học bằng cách sử dụng các quy trình đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Xác định nồng độ trong huyết thanh của các protein #57, #62, #97 và #134 bằng ELISA sandwich bằng cách sử dụng kháng thể khángmiền lặp lại ankyrin được thiết kế đơn dòng của thỏ làm chất bắt giữ và kháng thể kháng-miền lặp lại ankyrin được thiết kế đơn dòng của chuột làm chất phát hiện, và sử dụng đường cong chuẩn độ. Xác định các thông số dược động học bằng cách sử dụng phần mềm chuẩn như Phoenix WinNonLin (Certara, Princeton, Mỹ) hoặc GraphPadPrism (GraphPad Software, La Jolla, Mỹ) và các phân tích chuẩn như phân tích không khoanh vùng. Profin dược động học thu được được thể hiện trên Fig. 4. Các protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh đồng nhất thể hiện các tính chất dược động học được cải thiện so với các cấu trúc tương tự chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Ví dụ, bằng cách so sánh protein #57 (0,5 mg/Kg; 27,7 nmol/kg), bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh duy nhất (SEQ ID NO: 51), với protein #62 (1,04 mg/Kg; 34,5 nmol/kg), protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính

đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (hai SEQ ID NO: 51, được liên kết bởi liên kết polypeptit giàu-PT), kết quả cho thấy là có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh trong một protein dẫn đến nồng độ trong máu cao hơn (2138 d*nmol/L so với 4676 d*nmol/L, nghĩa là +119% được tính đến ngày 7), dẫn đến thanh thải giảm đi (0,0108 L/(d*kg) so với 0,0031 L/(d*kg); nghĩa là -71%), và dẫn đến thời gian bán thải được cải thiện (4,57 ngày so với 9,00 ngày, nghĩa là +97% được tính từ ngày 1 đến ngày 7) so với protein chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế duy nhất có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh (Fig. 4a). Tương tự, % liều dùng được tiêm, được chuẩn hoá đến nồng độ được đo 10 phút sau khi tiêm, gia tăng khi so sánh protein #57 với protein #62 ở ngày 4 (23,39% so với 57,72%; +148%), ngày 5 (19,00% so với 48,41%; +155%), và ngày 6 (18,5% so với 51.94%; +175%). Ví dụ khác ở khỉ cynomolgus, protein #134 (protein tương ứng với SEQ ID NO: 134, được điều chế như mô tả trong Ví dụ 4, được thử nghiệm ở các liều dùng khác nhau ở 10 con (5 con cái, 5 con đực, mỗi liều dùng) và đánh giá thời gian bán thải bằng cách sử dụng WinNonLin có tính đến các giá trị nồng độ tối đa đến ngày 7. Protein #134 thể hiện thời gian bán thải trung bình là 4,0 ngày (95 giờ) khi cho dùng ở liều 1 mg/kg (so với protein #97 thể hiện thời gian bán thải 2,7 ngày (65 giờ) ở liều dùng 1 mg/kg (+46%)), 5,3 ngày (127 giờ) khi cho dùng ở liều 10 mg/kg, và 5,8 ngày (139 giờ) khi cho dùng ở 100 mg/kg ở khỉ cynomolgus. Profin dược động học của protein #134 so với protein #97 ở khỉ cynomolgus được thể hiện trên Fig. 4b. Tương tự như Ví dụ 5, các kết quả này bất ngờ cho thấy là việc sử dụng hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh thay vì một miền trong protein liên kết tái tổ hợp dẫn đến các tính chất dược động học được cải thiện. Các kết quả này được đề cập dưới đây.

Khi không có hoạt tính liên kết albumin, protein liên kết tái tổ hợp có thời gian bán thải theo phút ở cả chuột nhắt và khỉ cynomolgus (xem tài liệu: WO 2012/069654). Các protein bao gồm ít nhất một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh thể hiện thời gian bán thải dài hơn so với nếu không có miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Profin dược động học của protein bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh được thể hiện trên Fig. 3a và Fig. 4a.

Lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế có một nghiên cứu, trong đó nghiên cứu khảo sát tác động của hoá trị của một miền liên kết protein albumin huyết thanh khác, albumin miền liên kết (ABD) thu được từ protein G của streptococcus (Hopp và các đồng tác giả, 2010; đã viện dẫn trong bản mô tả này). Một nghiên cứu khác sử dụng các peptit được dung hợp đầu tận cùng-C (WO 2011/095545), mà không phải là các miền protein. ABD là miền protein xoắn có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Đáng lưu ý, Hopp và các đồng tác giả 2010 (đã viện dẫn trong bản mô tả này) chứng tỏ là có hai ABD này (một ở đầu tận cùng-N và một ở đầu tận cùngC) trong protein liên kết tái tổ hợp không dẫn đến thời gian bán thải được cải thiện đáng kể ở chuột nhắt so với protein liên kết tái tổ hợp bao gồm chỉ một ABD (đầu tận cùng-C; 37,9±1,1 giờ so với 36,4±4,8 giờ). Cụ thể là, ở 24 giờ và 72 giờ sau khi tiêm, protein liên kết tái tổ hợp bao gồm một ABD thể hiện % liều dùng được tiêm giống như protein liên kết tái tổ hợp bao gồm hai ABD, cho thấy các tính chất dược động học tương đương của hai protein liên kết tái tổ hợp này. Dựa trên các khám phá đối với ABD, chuyên gia trong lĩnh vực sẽ cho là protein liên kết tái tổ hợp bao gồm hai miền liên kết protein như các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh sẽ không có các tính chất dược động học được cải thiện so với protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Bất ngờ, các tác giả sáng chế đã phát hiện thấy là không đúng như thế. Trái ngược với Hopp và các đồng tác giả (đã viện dẫn trong bản mô tả này), các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh bất ngờ thể hiện thời gian bán thải kéo dài hơn một cách rõ ràng so với các protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh.

Các ví dụ này minh hoạ một số các khám phá bổ sung. Ví dụ, các tính chất dược động học của protein #134 là ưu việt hơn so với các tính chất này của protein #97, minh hoạ tầm quan trọng của việc lựa chọn các miền lặp lại ankyrin được thiết kế đơn lẻ. SEQ ID NO: 134 được chọn bao gồm các cấu phần dẫn đến hoạt tính tối đa và các tính chất dược động học tối ưu. Tương tự, sự sắp xếp của các miền lặp lại ankyrin được thiết kế trong protein #134 đã được chọn để cho các tính chất dược động học tối ưu. Khi phân tích các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm bốn miền lặp lại

ankyrin được thiết kế bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, về dược động học ở chuột nhắt và khỉ cynomolgus, nhận thấy các tính chất dược động học thuận lợi nhất ở các protein liên kết tái tổ hợp có hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh bên sườn hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế còn lại.

Ví dụ này bao gồm các tổ hợp khác nhau các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với một đích khác không phải là albumin huyết thanh, phương pháp sử dụng ít nhất hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh để cải thiện các tính chất dược động học dường như là có thể áp dụng chung cho các protein bao gồm một vài miền lặp lại ankyrin được thiết kế.

Ví dụ 7. Liên kết đồng thời của protein #134 với hai phân tử albumin huyết thanh của người.

Protein #134 (protein liên kết tái tổ hợp có trình tự của SEQ ID NO: 134, có thêm GS ở đầu tận cùng N) được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4. Phân tích protein #134, albumin huyết thanh của người đã tinh chế (HSA), cũng như hỗn hợp protein #134/HSA (tỷ lượng 1:2) bằng sắc ký loại trừ kích cỡ kết hợp với quét ánh sáng tĩnh đa góc (SEC-MALS). Tiến hành SEC-MALS bằng cách sử dụng các protein của Bảng 6 ở nồng độ 30 µM (Protein #134) hoặc 60 µM (HSA) trên máy 1200 (Life Technologies, Mỹ) được nối với Wyatt (Mỹ) MALS và bộ phát hiện chỉ số khúc xạ (tốc độ chảy: 0,6 ml/phút; thể tích tiêm: 100 µl; cột: GE Healthcare (USA) Superdex200 10/300GL). Ủ sơ bộ hỗn hợp protein #134/HSA trong 3 giờ ở 20°C trước khi tiêm. Sắc ký đồ được thể hiện trên Fig. 5 và xác định khối lượng phân tử của các chất rửa giải và so với khối lượng phân tử lý thuyết, như thể hiện trong Bảng 6. Cho thử nghiệm này, tinh chế 100 mg HSA (dung dịch CSL Behring 20%) bằng cách sử dụng cột Superdex 200_26.60 trên hệ thống AEKTA (GE Healthcare; 2,0ml/phút, PBS, pha động hằng định, thể tích tiêm 10ml HSA được pha loãng 1:20 trong PBS, thu gom các phân đoạn 4ml). Phân đoạn pic có chứa pic chính được sử dụng cho thử nghiệm SEC-MALS.

Protein #134 ở nồng độ 30 µM là đơn phân tán với các phân đoạn rửa giải có chứa protein có phân tử lượng mong muốn (Fig. 5). Tương tự, HSA được tinh chế ở

nồng độ 60 µM là đơn phân tán với các phân đoạn rửa giải có chứa protein có phân tử lượng mong muốn (Bảng 6). Hỗn hợp của 30 µM protein #134 và 60 µM HSA cho hai pic trong SEC. Một pic có chứa các phức hợp protein có phân tử lượng tương ứng với phức hợp 1:2 (Protein #134/HSA), cho thấy là hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh là hoạt động đồng thời. Ngoài ra, ở phần đuôi của pic này, có thể phát hiện các phức hợp protein có phân tử lượng tương ứng với phức hợp 1:1 (Protein #134/HSA). Ngoài ra, có thể phát hiện HSA tự do. Do lượng này rất nhỏ, có thể loại trừ là pic chính là phức hợp 2:1 (Protein #134/HSA), mà về mặt lý thuyết là phù hợp với trọng lượng nhận thấy, cho dù cho là sẽ có một phân đoạn lớn hơn tương ứng với 75% HSA tự do. Không thể phát hiện protein #134/HSA tự do. Không phát hiện thấy các pic với trọng lượng phân tử tương ứng lớn hơn pic của phức hợp 1:2 (Protein #134/HSA). Các chỉ số SEC-MALS và các biến thiên nhận thấy của các chỉ số SEC-MALS là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này.

Bảng 6. Sắc ký loại trừ kích cỡ kết hợp với tán xạ ánh sáng tĩnh của protein #134 và HSA, cũng như phức hợp protein #134/HSA.

Pic	Tỷ lượng lý thuyết và trọng lượng phân tử (MW)	MW đo được
HSA	69366,6 Da	63350 Da
Protein #134	62397,0 Da	58700 Da
Đuôi protein #134/HSA	1:1, 131763,6 Da	132500 Da
Giữa protein #134/HSA	Hỗn hợp tỷ lệ 1:1 & 1:2, MW tuỳ thuộc vào tỷ lệ	173700 Da
Đầu protein #134/HSA	1:2, 201130,2 Da	197500 Da

Liên kết đồng thời của hai phân tử albumin huyết thanh của người với một protein liên kết tái tổ hợp là tương tự được nhận thấy khi phân tích protein #97, và protein #102, protein #109, protein #110 trong sắc ký loại trừ kích cỡ kết hợp với tán xạ ánh sáng tĩnh.

Ví dụ 8: Tối đa hoá hoạt tính liên kết đích bằng cách lựa chọn thành phần liên kết và bằng cách lựa chọn số lượng các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh

Các liên kết polypeptit mà liên kết các miền protein là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Các liên kết giàu-Gly-Ser là đã biết từ các mảnh kháng thể Fv đơn chuỗi, trong đó các mảnh này được sử dụng để liên kết hai chuỗi polypeptit Fv. Hiện có các liên kết polypeptit khác, bao gồm ví dụ các vùng bản lề kháng thể, hoặc các polypeptit không tạo cấu trúc như các trình tự bao gồm chủ yếu là các axit amin Ala, Glu, Lys, Pro, Ser, Thr (WO 2007/103515) hoặc Ala, Pro, và Ser (WO 2008/155134). Ngoài ra, các liên kết giàu-Pro-Thr đã được bộc lộ (WO 2014/191574). Tác động của liên kết này lên tính chất của các các miền protein được liên kết bằng các liên kết này cần phải được đánh giá cho từng tổ hợp liên kết/miền. Ngoài bản chất của liên kết polypeptit, các tác giả sáng chế bất ngờ phát hiện thấy là số lượng các miền liên kết albumin huyết thanh có thể ảnh hưởng đến hoạt tính của protein. Để làm tối đa hoạt tính liên kết đích của các protein liên kết tái tổ hợp của sáng chế, so sánh các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm các liên kết polypeptit giàu-Gly-Ser và giàu-Pro-Thr cũng như các protein liên kết tái tổ hợp bao gồm một hoặc hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Để so sánh, phân tích các protein #69, #71, và #107, mỗi protein có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N và được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4, về khả năng liên kết với VEGF-A và HGF, tương ứng bằng ELISA (về các phương pháp, xem Ví dụ 4). Các kết quả được thể hiện trong Bảng 7. So sánh các giá trị EC_{50} của protein #69 với protein #71 cho thấy là protein liên kết tái tổ hợp với các liên kết giàu-Pro-Thr liên kết mạnh hơn với VEGF-A (hệ số 2) và HGF (hệ số 1,3), so với các protein liên kết tái tổ hợp với các liên kết giàu-GlySer. So sánh các giá trị EC_{50} của protein #69 với protein #107 cho thấy là protein liên kết tái tổ hợp bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh liên kết mạnh hơn với VEGF-A (hệ số 1,4) và HGF (hệ số 1,1), so với protein liên kết tái tổ hợp chỉ bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh. Khám phá này là bất ngờ so với các kết quả trước đây (Hopp và các đồng tác giả, 2010), trong đó có mặt miền liên kết albumin trong một cấu trúc có tác động bất lợi đối với hoạt tính của phân tử đó. Kết quả này cho thấy là các protein liên kết tái tổ hợp ưu tiên bao gồm các liên kết giàu-Pro-Thr và hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, hơn là các liên kết giàu-Gly-Ser và một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh.

Bảng 7: *Phân tích ELISA các protein liên kết tái tổ hợp có các liên kết khác nhau và số lượng khác nhau các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh*

Protein #*	Liên kết	Số lượng SABD†	EC_{50} [nM] VEGF-A	EC_{50} [nM] HGF
69	PT	1	0,102	0,117
71	GS	1	0,205	0,179
107	PT	2	0,073	0,107

* protein #69, #71, và #107 trong bảng này biểu thị các miền lặp lại ankyrin được thiết kế có trình tự axit amin tương ứng của SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, và SEQ ID NO: 107, và thêm nhãn-His ở đầu tận cùng-N (SEQ ID NO: 1).

†Số lượng miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh.

Ví dụ 9. Cải thiện độ ổn định của protein khi sử dụng SEQ ID NO: 50.

Các protein #48, #49, và #51 còn được xác định đặc tính về điểm giữa nhiệt độ biến tính của chúng (nghĩa là điểm giữa mở gấp phân tử hợp tác khi nhiệt độ gia tăng) bằng cách trộn các protein (25 µl; 100 µM trong PBS) với chất nhuộm màu huỳnh quang (25 µl màu cam Sypro (Life Technologies) được pha loãng 1/2500 trong PBS) và xác định đường cong tan chảy với máy luân nhiệt bao gồm bộ đọc huỳnh quang (Hệ thống phát hiện PCR thời gian thực CFX96; Biorad; thời gian giữ 25 giây/0,5°C tiếp đó đọc huỳnh quang), về cơ bản như được Niesen và các đồng tác giả mô tả (Nature Protocols 2, 2212-2221, 2007 của Niesen, F.H., Berglund, H., Vedadi, M.). Trong PBS, protein #48 thể hiện điểm giữa biến tính là 83,5°C, và protein #49 thể hiện điểm giữa biến tính là 84,5°C, trong khi đó protein #51 thể hiện điểm giữa biến tính là 79,5°C.

Để xác định miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh có các tính chất về độ ổn định trong bảo quản tốt nhất, các protein #49, #50 và #51 (tương ứng với SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50 và SEQ ID NO: 51, có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N) được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4, cô các mẫu đến nồng độ còn 10 mg/ml trong PBS. Các protein #50 và #51 tiếp đó được bảo quản trong 1 tháng ở -80°C hoặc ở 40°C trong lọ thuỷ tinh, tiếp đó được phân tích trên SDS 15% PAGE. Trong khi các protein #50 và #51 thể hiện độ

ổn định tương đương nhau khi bảo quản ở -80°C, protein #50 thể hiện giảm lượng sản phẩm phân huỷ đáng kể ở mức >50% so với protein #51 trên SDS 15% PAGE sau 1 tháng bảo quản ở 40°C. Tương tự, khi bảo quản ở 4°C, 25°C, 40°C và 60°C trong một tuần ở nồng độ 10mg/ml trong PBS, protein #50 thể hiện giảm lượng sản phẩm phân huỷ đáng kể so với protein #49. Cụ thể là, protein #50 thể hiện giảm >50% sản phẩm phân huỷ so với protein #49 trên SDS 15% PAGE khi cả hai tương ứng được bảo quản ở 40°C hoặc 60°C (Fig. 2). Các kết quả này cho thấy là protein #50 có độ ổn định trong bảo quản được cải thiện so với các protein #49 và #51. Tương tự, khi so sánh độ ổn định trong bảo quản của các protein từ #48 đến #51 (tương ứng từ SEQ ID NO: 48 đến SEQ ID NO: 51, có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N; được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4), bằng cách ủ các protein này ở nồng độ 10 mg/ml trong PBS trong lọ thuỷ tinh trong 1 tháng ở 40°C, các protein từ #48 đến #50 thể hiện giảm >30% các sản phẩm phân huỷ so với protein #51.

Các khám phá này được chứng tỏ bằng cách thử nghiệm độ ổn định trong bảo quản của protein #102 và protein #103 (các protein liên kết tái tổ hợp có các trình tự axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 102 và SEQ ID NO: 103, đều có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N). Protein #102 và protein #103 được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4, cô các mẫu đến nồng độ còn 10mg/ml trong PBS và bảo quản trong 1 tháng ở -80°C hoặc ở 40°C lọ thuỷ tinh, tiếp đó phân tích bằng sắc ký loại trừ kích cỡ chuẩn. Trong khi các protein #102 và #103 thể hiện profin rửa giải tương đương khi bảo quản ở -80°C, protein #102 chứng tỏ là 98,72% monome và protein #103 chứng tỏ là 100% monome khi bảo quản ở 40°C. Kết quả này cho thấy là có SEQ ID NO: 50 trong protein liên kết tái tổ hợp là ưu việt hơn về độ ổn định trong bảo quản so với có SEQ ID NO: 49. Tương tự, protein #103 thể hiện lượng sản phẩm phân huỷ thấp hơn so với protein #102 khi phân tích bằng SDSPAGE sau 1 tháng bảo quản ở 40°C trong lọ thuỷ tinh trong PBS ở nồng độ 10 mg/ml, điều này khẳng định độ ổn định trong bảo quản tốt hơn của protein liên kết tái tổ hợp bao gồm SEQ ID NO: 50 so với protein liên kết tái tổ hợp bao gồm SEQ ID NO: 49.

Thu được các kết quả tương tự khi so sánh protein#134 với protein #143 hoặc protein #150 (các protein liên kết tái tổ hợp có các trình tự axit amin tương ứng với SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 143 và SEQ ID NO: 150), được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4. Khi bảo quản ở 40°C trong một tháng ở nồng độ 10 mg/ml trong

PBS trong lọ thuỷ tinh, protein #134 thể hiện giảm sản phẩm phân huỷ >50% so với các protein #143 và #150 khi phân tích trên SDS 15% PAGE. Kết quả này cho thấy có mặt SEQ ID NO: 50 trong protein liên kết tái tổ hợp là ưu việt hơn về độ ổn định trong bảo quản so với có mặt SEQ ID NO: 49 hoặc SEQ ID NO: 51.

Ví dụ 10: Xác định đặc tính của các protein liên kết tái tổ hợp bằng cách sử dụng ELISA

Protein liên kết tái tổ hợp đã tinh chế có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134, được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4, được phân tích ELISA. 100 µl hoặc 50 µl dung dịch có chứa 20 nM đích (VEGF-A, HGF, hoặc albumin huyết thanh) trong PBS/giếng được cố định trong đĩa Maxisorp (Nunc, Denmark) qua đêm ở 4°C. Sau khi rửa 5 lần bằng 300 µl PBST (PBS có bổ sung 0,1% Tween 20), phong bế các giếng bằng 300 µl PBST-C (PBST có bổ sung 0,25% casein) trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng kèm theo lắc ở 450 vòng/phút trên máy lắc Titramax 1000 (Heidolph, Đức). Sau khi rửa 5 lần như mô tả ở trên, cho protein #134 vào 100 µl/giếng hoặc 50 µl/giếng (nồng độ nằm trong khoảng từ 100 nM đến 0,01 pM) trong PBST-C và ủ trong từ 1 giờ đến 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng kèm theo lắc ở 450 vòng/phút. Sau khi rửa 5 lần như mô tả ở trên, phát hiện liên kết của protein #134 bằng cách sử dụng 100 µl hoặc 50 µl/giếng kháng thể đơn dòng kháng-miền lặp lại ankyrin được thiết kế của thỏ trong PBST-C trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng kèm theo lắc ở 450 vòng/phút. Sau khi rửa 5 lần như mô tả ở trên, phát hiện kháng thể kháng-miền lặp lại ankyrin được thiết kế đã liên kết bằng cách sử dụng 100 µl hoặc 50 µl/giếng thể tiếp hợp IgG-HRP của dê kháng thỏ trong PBST-C trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng kèm theo lắc ở 450 vòng/phút. Sau khi rửa 5 lần như mô tả ở trên, tiến hành ELISA bằng cách sử dụng 100 µl cơ chất POD xanh hoà tan BM (Roche, Switzerland), được pha loãng 1:4 trong nước. Dừng phản ứng sau 5 phút bằng cách sử dụng 100 µl dung dịch H_2SO_4 1 M. Tiếp đó đọc OD (OD 450 nm - OD 620 nm).

Kết quả ELISA cho thấy là protein #134 liên kết VEGF-A của người, khỉ cynomolgus, chuột cống và chuột nhắt với mức độ tương đương (Bảng 8 và Fig. 6a). VEGF-A của khỉ cynomolgus là tương đồng với VEGF-A của người và do đó không được thử nghiệm riêng rẽ. Không phát hiện thấy có liên kết của protein #134 với VEGF-C và PDGF-AB (Bảng 9 và Fig. 6a). Protein #134 liên kết với HGF của người, khỉ cynomolgus và chuột nhắt với mức độ tương đương (các giá trị EC_{50} nằm trong

khoảng 20 – 50 pM; Bảng 8 và Fig. 6b). Ngoài ra, protein #134 liên kết albumin huyết thanh của người, khỉ cynomolgus, chuột cống, chó và chuột nhắt với mức độ tương đương (các giá trị EC_{50} nằm trong khoảng 10 – 20 pM; Bảng 8 và Fig. 6c). So sánh protein #134 (nghĩa là protein có trình tự của SEQ ID NO: 134) với protein #60 hoặc protein #61 (nghĩa là các protein có trình tự của SEQ ID NO: 60 hoặc SEQ ID NO: 61, có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng N, được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4), cho thấy là EC_{50} của protein #134 nhận thấy đối với liên kết albumin huyết thanh của người là tốt hơn đáng kể so với các giá trị này nhận thấy đối với các protein #60 hoặc #61 (tương ứng 225 pM hoặc 322 pM).

Bảng 8: *Giá trị EC_{50} biểu kiến của protein #134 cho liên kết với VEGF-A, HGF và albumin huyết thanh của các loài khác nhau*

Loài	EC_{50} [pM] VEGF-A (95% C.I.)*	EC_{50} [pM] HGF (95% C.I.)*	EC_{50} [pM] SA (95% C.I.)*
Người	24 (20-27)	24 (20-29)	13 (10-16)
Chuột nhắt	21 (19-23)	45 (38-52)	15 (13-17)
Chuột Cống	22 (18-26)	n.a.	17 (13-21)
Chó	n.a.	n.a.	23 (20-25)
Khỉ cynomolgus	24 (20-27)†	40 (36-44)	17 (13-21)

* khoảng tin cậy C.I., † 100% tương đồng trình tự với VEGF-A của người, do đó giá trị cho VEGF-A của người được liệt kê, n.a. không được phân tích

Bảng 9. Giá trị *EC_{50}* biểu kiến của protein #134 cho liên kết với VEGF và PDGF của người khác nhau

Đích	EC_{50} [pM] (95% C.I.)*
VEGF-A của người	24 (20-27)
VEGF-C của người	Không phát hiện có liên kết
PDGF-AB của người	Không phát hiện có liên kết

* C.I. khoảng tin cậy

Ví dụ 11: Xác định đặc tính của các protein liên kết tái tổ hợp bằng cách sử dụng các thử nghiệm cạnh tranh

Protein liên kết tái tổ hợp đã tinh chế có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134, được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4, được phân tích ELISA và FRET cạnh tranh. Các thử nghiệm FRET và ELISA cạnh tranh này là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Protein #134 được xác định trong thử nghiệm FRET cạnh tranh VEGF-A/VEGFR-2. Cho thử nghiệm này, protein #134 và VEGF-A165 biotin hoá (Reliatech, #300-076Bi-L) được điều chế dưới dạng dịch gốc cô đặc támlần trong PBS có chứa 0,2% BSA và 0,01% Tween (PBST-BSA). Ủ sơ bộ hỗn hợp cạnh tranh gồm 5 µl protein #134 cô đặc tám-lần và 5 µl VEGF-A165 được biotin hoá cô đặc tám-lần trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng (hỗn hợp cạnh tranh). Đồng thời, thêm 5µl Streptavidin-Tb (chất cho cryptat streptavidin-Lumi4-terbium, Cisbio #610SATLB) và 5 µl PAb kháng-hIgG-de (IgG của dê kháng-người được tiếp hợpD2, Cisbio #61HFCDAA) vào 500µl dịch đệm PBST-BSA buffer và ủ trong 20 phút (thuốc thử 2x). Phân tán 10 µl/giếng thuốc thử 2x trong đĩa màu trắng HTRF 384-giếng (Thermo Fisher Scientific Inc.) và thêm vào 5 µl/giếng thể dung hợp hVEGF-R2-Fc cô đặc bốn-lần (Reliatech #SFC-008). Tiếp đó thêm vào các giếng này 5 µl hỗn hợp cạnh tranh đã ủ sơ bộ. Ủ hỗn hợp phản ứng toàn vẹn trong bóng tối trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng trước khi đọc huỳnh quang bằng máy đọc huỳnh quang. Hỗn hợp cuối cùng có chứa 10 nM thể dung hợp VEGF-R2-Fc hoà tan, 10 nM VEGF-A đã biotin hoá, và protein #134 ở nồng độ khác nhau. Đọc ở bước sóng A665 nm và A595 nm (Kích hoạt 340nm). Kết quả thử nghiệm hVEGFR2-Fc được thể hiện trên Fig. 7a. Trong thử nghiệm này, protein #134 ức chế tương tác của VEGF-A/VEGFR-2 với giá trị IC_{50} = 0,6 nM. Protein #134 còn được xác định trong thử nghiệm ELISA cạnh

tranh HGF/cMet như được mô tả trong Ví dụ 3. Các kết quả của thử nghiệm được thể hiện trên Fig. 7b. Trong thử nghiệm này, protein #134 ức chế tương tác của HGF/cMet với giá trị IC_{50} = 0,92 nM. Protein #134 cũng được xác định trong thử nghiệm ELISA cạnh tranh VEGF-A như được mô tả trong Ví dụ 3. Các kết quả được thể hiện trên Fig. 7c. Trong thử nghiệm này, protein #134 ức chế liên kết-VEGF với IC_{50} trong khoảng nồng độ có giá trị một chữ số pM (IC_{50} 4,5 pM).

Ví dụ 12: Xác định đặc tính liên kết đích đồng thời của các protein liên kết tái tổ hợp bằng cách sử dụng cộng hưởng plasmon bề mặt

Xác định SPR theo cách tương tự như được mô tả trong Ví dụ 2, với tiến hành cụ thể như dưới đây. Cố định 2700 RU HGF của người trên chíp cảm biến. Tiếp đó tiêm 100 nM protein #134 hoặc PBST trong 180 giây, sau đó rửa bằng PBST trong 360 giây. Sau bước này, tiêm 100 nM VEGF-A của người hoặc PBST trong 180 giây (cho đến bão hoà) tiếp đó rửa bằng PBST trong 360 giây. Cuối cùng, tiêm 100 nM albumin huyết thanh của người hoặc PBST trong 180 giây tiếp đó rửa bằng PBST trong 600 giây. Các tín hiệu thu được được thể hiện trên Fig. 8. Các kết quả chỉ ra là protein #134 có thể liên kết HGF, VEGF-A, và albumin huyết thanh. Ngoài ra, các kết quả cho thấy protein #134 có thể liên kết đồng thời HGF và VEGF-A, cũng như HGF, VEGF-A, và albumin huyết thanh.

Ví dụ 13: Xác định đặc tính của các protein liên kết tái tổ hợp trong dịch nuôi cấy tế bào

Protein liên kết tái tổ hợp đã tinh chế có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134, được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4, được tiếp tục thử nghiệm tế bào kể cả thử nghiệm tăng sinh HUVEC để đánh giá khả năng ức chế VEGF-A, và thử nghiệm di chuyển tế bào A549 cũng như thử nghiệm phosphoryl hoá cMet, cả hai thử nghiệm này nhằm đánh giá khả năng ức chế HGF, các thử nghiệm này là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực.

Xác định khả năng ức chế tăng sinh HUVEC do cảm ứng-VEGF-A bằng cách chuẩn độ nồng độ protein #134 tăng dần trong thử nghiệm tăng sinh HUVEC. Sử dụng VEGF-A của người ở nồng độ 8 ng/ml (tương ứng với EC80 như được xác định trong thử nghiệm tăng sinh). Chuẩn độ protein #134 từ nồng độ 200 ng/ml đến 0,195

ng/ml. Tạo mầm các tế bào trong 50 µl môi trường thử nghiệm. Pha các dịch pha loãng protein (trong môi trường thử nghiệm) bằng cách pha loãng theo bậc tỷ lệ 1:2 trong đĩa pha loãng; nồng độ gấp bốn lần nồng độ cuối cùng. Trộn các dịch pha loãng của protein #134 với dịch cô đặc VEGF-A bốn-lần (32 ng/ml; nồng độ cuối cùng 8 ng/ml) theo tỷ lệ 1:1. Thêm 50 µl hỗn hợp này vào các tế bào trong 72 giờ. Xác định sự tăng sinh tế bào bằng tỷ lệ kết hợp trong ADN sao chép hoặc bằng cách theo dõi hoạt tính chuyển hoá bằng cách sử dụng WST-1. Các kết quả được thể hiện trên Fig. 9a, cho thấy là protein #134 biểu hiện IC_{50} = 5,7 ng/ml (91,35 pM).

Xác định khả năng ức chế tương tác của HGF/cMet bằng cách sử dụng protein #134 trong thử nghiệm di chuyển tế bào Oris (Platypus Technologies, USA). Tiến hành thử nghiệm này theo quy trình của nhà sản xuất. Vắn tắt là, tạo mầm các tế bào bằng 100.000 tế bào A549 trong DMEM không chứa huyết thanh. Các tế bào bám dính sau 24 giờ và thay môi trường bằng môi trường thử nghiệm; DMEM có chứa và không có chứa 0,5 nM HGF kèm theo và không kèm theo 5 µM protein. Ủ sơ bộ HGF và protein trung hoà trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng trước khi thêm vào các tế bào. Loại bỏ các nút đậy Oris™. Tiếp đó ủ hỗn hợp thử nghiệm trong 48 giờ để cho tế bào di chuyển. Nhuộm màu các tế bào bằng Calcein (2,5 ng/ml) trong 40 phút và chụp ảnh. Xác định vùng di chuyển bằng cách sử dụng Olympus hiển vi đảo ngược và phần mềm CellSens Dimension của nó. Tính toán diện tích di chuyển là diện tích được bao phủ bằng cách lấy diện tích không được bao phủ của các giếng mẫu tương ứng trừ đi diện tích không được bao phủ của giếng trước khi-di chuyển. Diện tích không được bao phủ là diện tích không có tế bào và được xác định bằng cách sử dụng hàm đường kính trong tệp xử lý dữ liệu của phần mềm này. Các kết quả được thể hiện trên Fig. 9b và cho thấy là protein #134 có thể ức chế dự di chuyển của các tế bào A549 do cảm ứng-HGF.

Xác định khả năng ức chế phosphoryl hoá cMet của protein #134 bằng cách sử dụng các tế bào A549 và DuoSet P-cMet-ELISA (RnD Systems). Tạo mầm các tế bào trong môi trường toàn vẹn trong các đĩa 96 giếng, thêm vào 200.000 tế bào/giếng trong môi trường toàn vẹn. 24 giờ sau thay môi trường bằng môi trường không chứa huyết thanh. Ủ các tế bào thêm 24 giờ và kích thích bằng 1 nM HGF của người (hoặc PBS cho mẫu đối chứng âm tính) khi có và không có mặt protein #134. Ủ sơ bộ HGF và protein #134 trong ít nhất 30 phút ở nhiệt độ trong phòng trước khi thêm vào các

tế bào. Kích thích các tế bào trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng. Ngừng kích thích bằng cách loại bỏ dịch nổi tế bào (bằng cách búng nhẹ) và thêm vào dịch đệm phân giải tế bào theo quy trình. Các dịch phân giải tế bào được giữ ở -20°C cho đến khi tiến hành ELISA. Các kết quả được thể hiện trên Fig. 9c và cho thấy là protein #134 có thể ức chế phosphoryl hoá cMet qua trung gian-HGF với IC_{50} = 184 pM.

Ví dụ 14: Tác dụng của các protein liên kết tái tổ hợp lên tăng trưởng khối u in vivo

Sử dụng mô hình chuột ghép khác loài U87MG để đánh giá lợi ích của việc có miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A kết hợp với miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF so với có từng miền riêng rẽ. Protein #134 có trình tự của SEQ ID NO: 134 (bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh mỗi miền có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A có trình tự của SEQ ID NO: 18, và bao gồm một miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 26), protein #61 có trình tự của SEQ ID NO: 61 (bao gồm miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, và bao gồm miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với VEGF-A, có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 18) và có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng-N, hoặc protein #60 có trình tự của SEQ ID NO: 60 (bao gồm miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với albumin huyết thanh, có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 50, và bao gồm miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu liên kết đối với HGF, có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 26) và có thêm SEQ ID NO: 1 ở đầu tận cùng-N, được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4. Để phân tích in vivo, cấy dưới da $2*10^6$ tế bào U87MG/chuột vào sườn phải của chuột nu/nu NMRI giống cái (Harlan) và phân nhóm các con chuột thành các nhóm có kích cỡ khối u tương đương trong một nhóm. Vào ngày 29 và ngày 32, điều trị cho các con chuột bằng PBS hoặc 4 mg/kg protein tiêm tĩnh mạch. Vào ngày 35, thu gom các khối u và để đông lạnh-cryo. Vào mỗi ngày điều trị, xác định thể tích khối u bằng công thức: Thể tích = $(\text{chiều rộng})^2$ x chiều dài/2. Chỉ số trọng lượng cơ thể cho thấy không có sự khác biệt đáng kể giữa bốn nhóm điều trị. Tiếp đó nhuộm màu lát cắt khối u bằng cách sử dụng kháng thể đối với Ki67 (ab66155; Abcam, Anh) để định lượng mức tăng sinh, hoặc bằng cách sử dụng kháng thể đối với

CD-31 (BD550274; BD Biosciences, Mỹ) để định lượng mức tạo mạch bằng cách sử dụng các phương pháp IHC chuẩn. Xác định % các tế bào tăng sinh và % diện tích mạch trung bình bằng phần mền Image J. Các kết quả được thể hiện trên Fig. 10a. So với PBS, protein #60 cũng như protein #61 ức chế sự tăng sinh, và protein #60 (mức nhẹ) cũng như protein #61 ức chế sự tạo mạch, như mong đợi. Kết hợp của hai protein này, cho protein #134, dẫn đến khả năng ức chế cả sự tăng sinh và tạo mạch được cải thiện. Kết quả này cho thấy là kết hợp hoạt tính kháng-VEGF-A và kháng-HGF là có tính quyết định để có hiệu quả tốt.

Protein #134 còn được xác định đặc tính tiếp trên hai mô hình chuột nhắt ghép khác loài khối u lấy từ bệnh nhân, mô hình bệnh ung thư dạ dày và mô hình bệnh ung thư thận. Chuột nhắt ghép khác loài khối u lấy từ bệnh nhân là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Protein #134 được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 4.

Cho mô hình chuột nhắt ghép khác loài khối u lấy từ bệnh nhân ung thư thận, các mẫu bệnh phẩm ung thư tế bào thận được ghép dưới da vào chuột nu/nu NMRI và cấy chuyển từ ba đến năm lần cho đến thiết lập kiểu tăng trưởng ổn định. Sau khi cắt lấy khối u từ chuột cho, các khối u được cắt thành các mảnh có đường kính 45 mm, các mảnh này được cấy dưới da vào chuột nu/nu NMRI. Khi thấy có khởi phát tăng trưởng khối u rắn rõ rệt, phân ngẫu nhiên các con chuột thành các nhóm ba con/nhóm, và cho sử dụng chất thử cho mỗi con trong từng nhóm như sau: PBS được cho dùng tiêm tĩnh mạch ở liều 10 ml/kg x 3 lần/tuần x 3 tuần; protein #134 được cho dùng tiêm tĩnh mạch ở liều 4 mg/kg x 3 lần/tuần x 3 tuần; sorafenib được cho dùng qua đường miệng ở liều 200 mg/kg/ngày x 21 ngày. Đánh giá thể tích khối u như mô tả ở trên vào ngày bắt đầu điều trị cũng như vào ngày 3, 7, 10, 14, 18, và 21. Các kết quả được thể hiện trên Fig. 10b. Trên mô hình này, protein #134 có hiệu quả hơn sorafenib, đây là thuốc điều trị chuẩn hiện nay cho bệnh caxinôm tế bào thận.

Cho mô hình chuột nhắt ghép khác loài khối u lấy từ bệnh nhân ung thư dạ dày, cấy mẫu bệnh phẩm ung thư dạ dày từ mẫu bệnh phẩm lấy khi phẫu thuật vào chuột nu/nu NMRI và cấy chuyển từ ba đến năm lần cho đến khi thiết lập kiểu tăng trưởng ổn định. Sau khi cắt lấy khối u từ chuột cho, các khối u được cắt nhỏ thành các mảnh có đường kính 4-5 mm, các mảnh này được cấy dưới da vào chuột NMRI nu/nu. Khi thấy có khởi phát tăng trưởng khối u rắn rõ rệt, phân ngẫu nhiên các con

chuột thành các nhóm tám con/nhóm, và cho sử dụng chất thử cho mỗi con trong từng nhóm như sau: PBS được cho dùng tiêm tĩnh mạch ở liều vào ngày 0, 3, 6, 9, 12, 15, và 18; protein #134 được cho dùng tiêm tĩnh mạch ở liều 4 ml/kg vào ngày 0, 3, 6, 9, 12, 15, và 18; Paclitaxel được cho dùng tiêm tĩnh mạch ở liều 15 mg/kg vào ngày 0, 7, và 14; protein #134 + paclitaxel được cho dùng tiêm tĩnh mạch ở liều 4 mg/kg vào ngày 0, 3, 6, 9, 12, 15, và 18, và tiêm tĩnh mạch ở liều 15 mg/kg và ngày 0, 7, và 14. Đánh giá thể tích khối u như mô tả ở trên vào ngày bắt đầu điều trị cũng như vào ngày 2, 6, 13, 16, và 20. Các kết quả được thể hiện trên Fig. 10c. Trên mô hình này, protein #134 ít nhất có hiệu quả như paclitaxel, và kết hợp hai chất này có hiệu quả hơn đáng kể so với các chất riêng rẽ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Protein liên kết tái tổ hợp bao gồm miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất có tính đặc hiệu liên kết với yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu A (VEGF-A) và bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 90% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 18, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai có tính đặc hiệu liên kết với yếu tố tăng trưởng tế bào gan (HGF) và bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 90% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:26, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư này đều có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh và bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 90% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:50.

2. Protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 95% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:18, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 95% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:26, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư đều bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 95% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:50.

3. Protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 1, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 98% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:18, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 98% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:26, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư đều bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 98% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:50.

4. Axit nucleic mã hoá trình tự axit amin của protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 1.

5. Dược phẩm chứa protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 1 và chất mang và/hoặc chất pha loãng dược dụng phù hợp.

6. Protein liên kết tái tổ hợp bao gồm miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất, thứ hai, thứ ba và thứ tư, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất này có tính đặc hiệu liên kết với VEGF-A ở người và bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 90% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:18, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai có tính đặc hiệu liên kết với HGF ở người và bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 90% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:26, và trong đó các miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư đều có tính đặc hiệu liên kết với albumin huyết thanh ở người và bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 90% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:50.

7. Protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 90% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134, trong đó protein liên kết tái tổ hợp có tính đặc hiệu liên kết với HGF, VEGF-A và albumin huyết thanh.

8. Axit nucleic mã hoá trình tự axit amin của protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 7.

9. Dược phẩm chứa protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 7 và chất mang và/hoặc chất pha loãng dược dụng phù hợp.

10. Protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 6, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 95% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:18, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 95% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:26, và trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư đều bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 95% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO:50.

11. Protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 6, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ nhất bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO:18.

12. Protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 6, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ hai bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO:26.

13. Protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 6, trong đó miền lặp lại ankyrin được thiết kế thứ ba và thứ tư bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO:50.

14. Protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 6, trong đó protein liên kết tái tổ hợp ức chế tương tác liên kết giữa VEGF-A và VEGFR-2 và/ hoặc ức chết tương tác liên kết giữa HGF và cMet.

15. Protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 7, trong đó protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin có mức tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 95% so với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134.

16. Protein liên kết tái tổ hợp theo điểm 7, trong đó protein liên kết tái tổ hợp bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 134.

Fig. 1

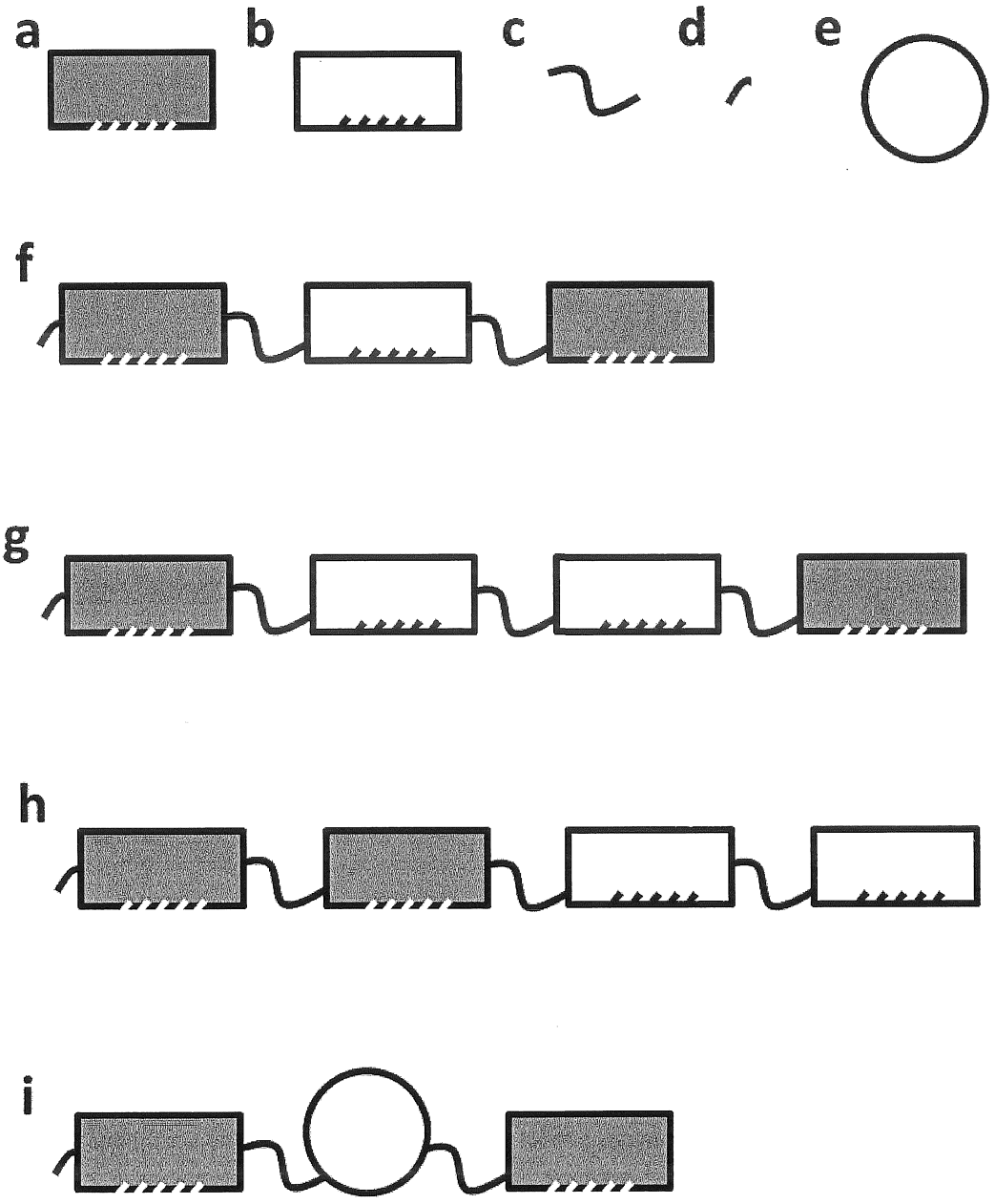


Fig. 2

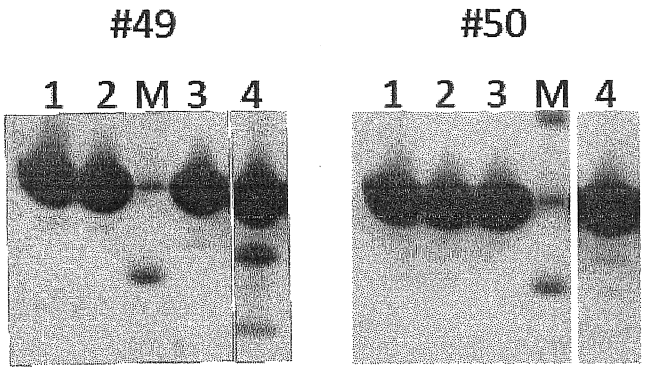

#49
1 2 M 3 4
#50
1 2 3 M 4

Fig. 3

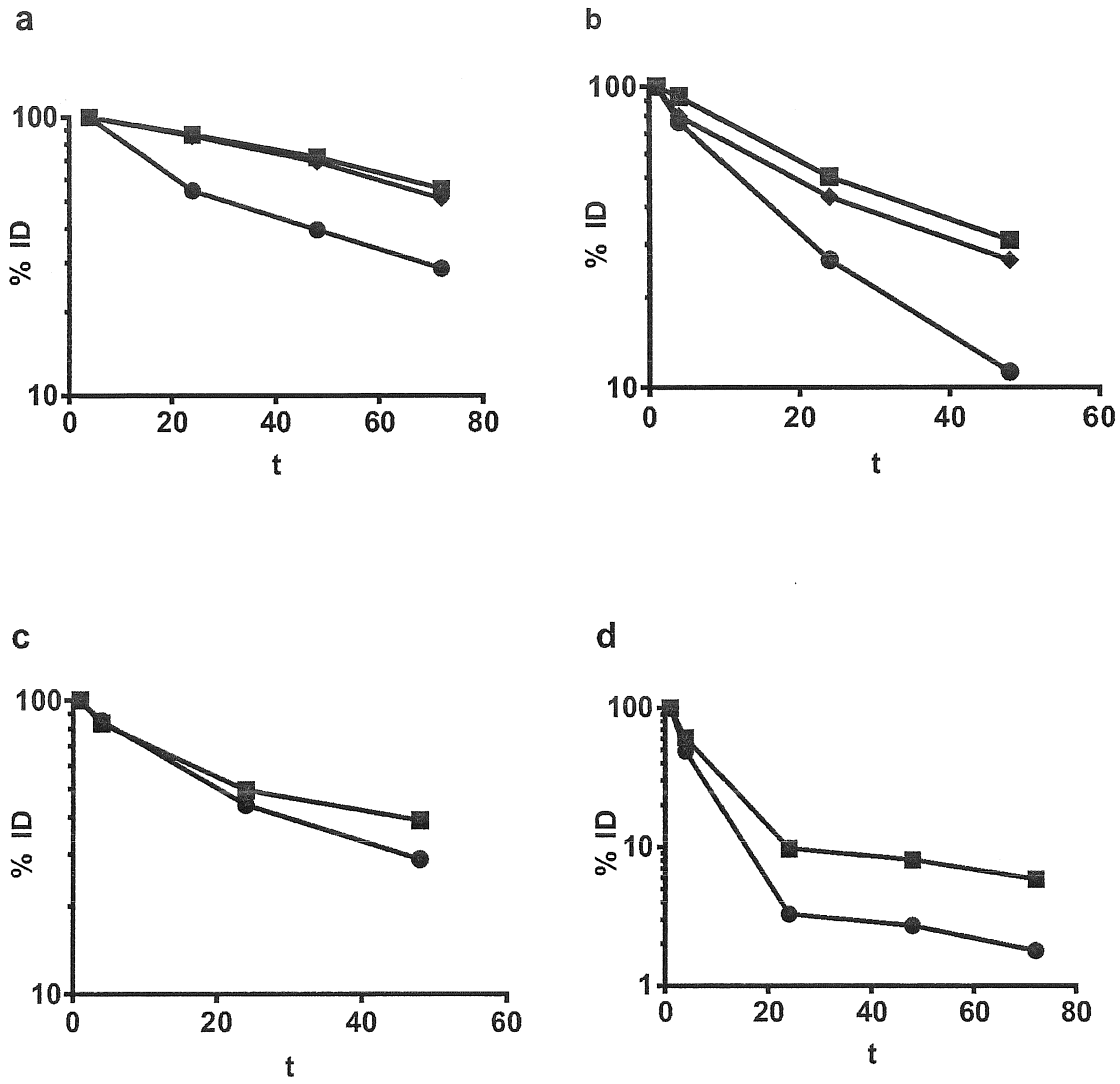

a
100
% ID
10
0 20 40 60 80
t
b
100
% ID
10
0 20 40 60
t
c
100
% ID
10
0 20 40 60
t
d
100
% ID
10
1
0 20 40 60 80
t

Fig. 4

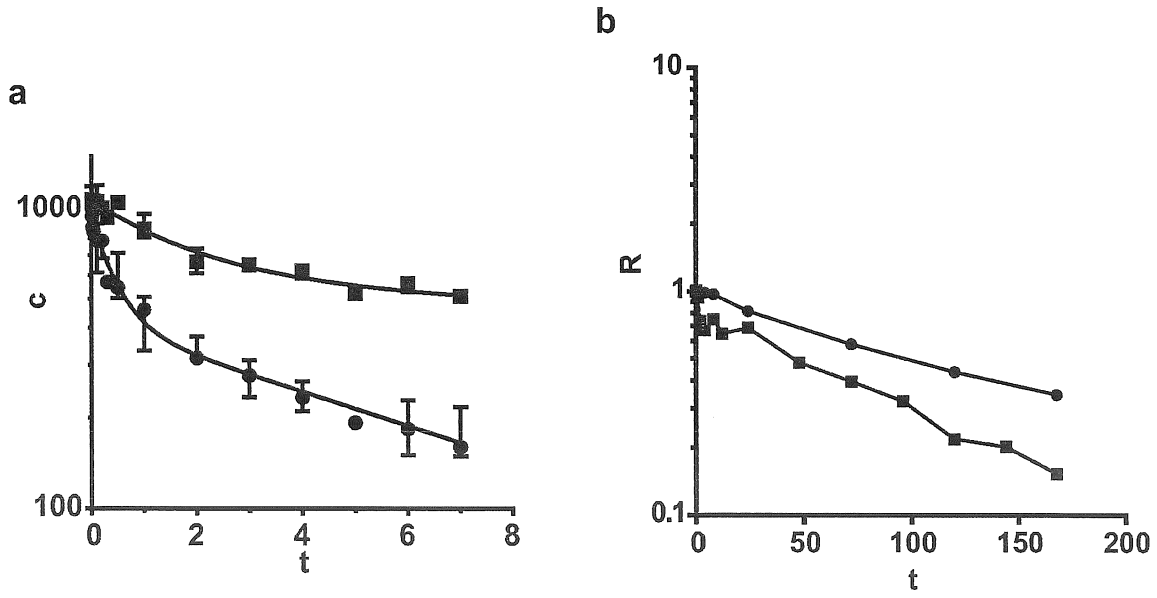

a
1000
c
100
0
2
4
6
8
t
b
10
R
1
0.1
0
50
100
150
200
t

Fig. 5

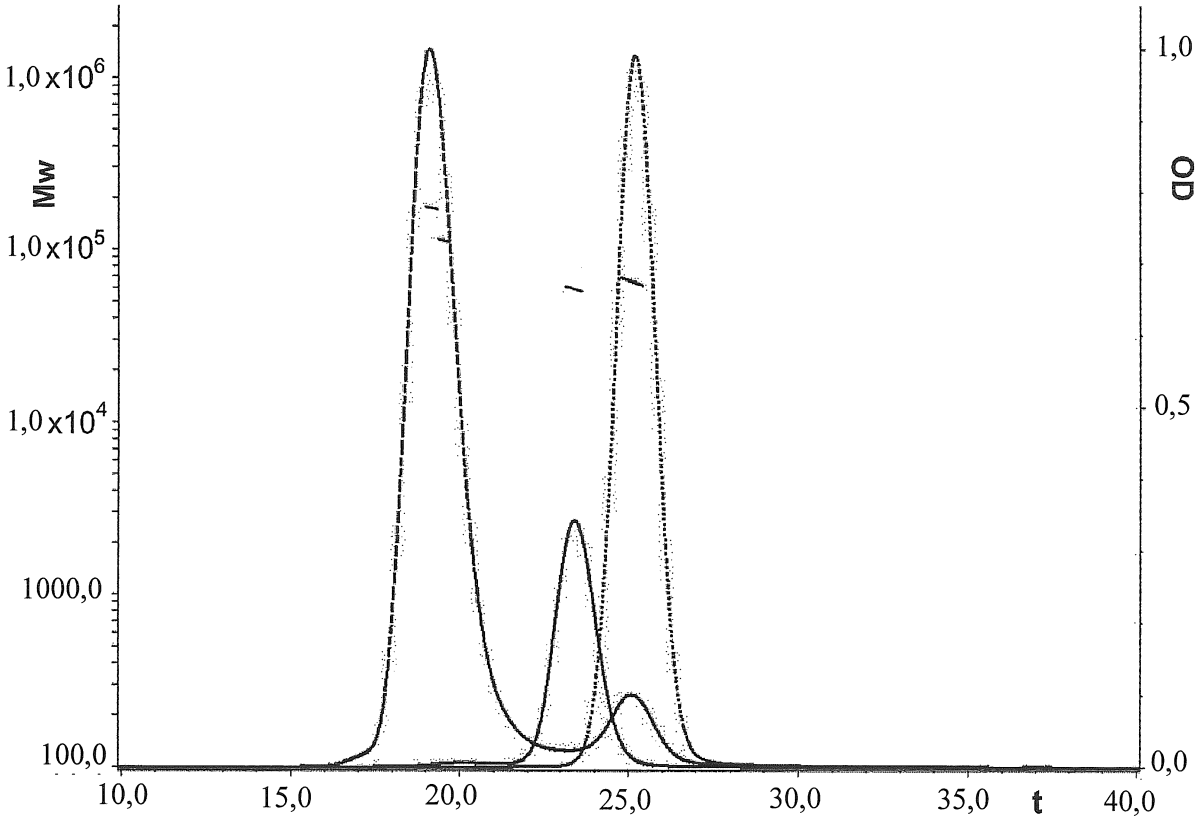

1,0x10^6
Mw
1,0x10^5
1,0x10^4
1000,0
100,0
10,0
15,0
20,0
25,0
30,0
35,0
t
40,0
1,0
OD
0,5
0,0

Fig. 6a

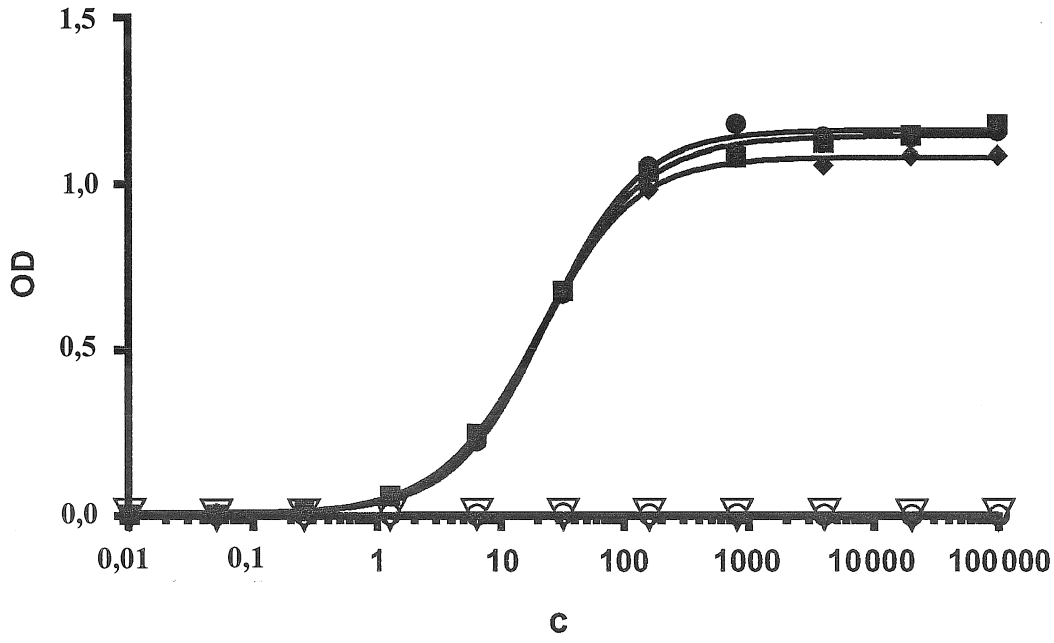

1,5
1,0
0,5
0,0
OD
0,01
0,1
1
10
100
1000
10000
100000
c

Fig. 6b

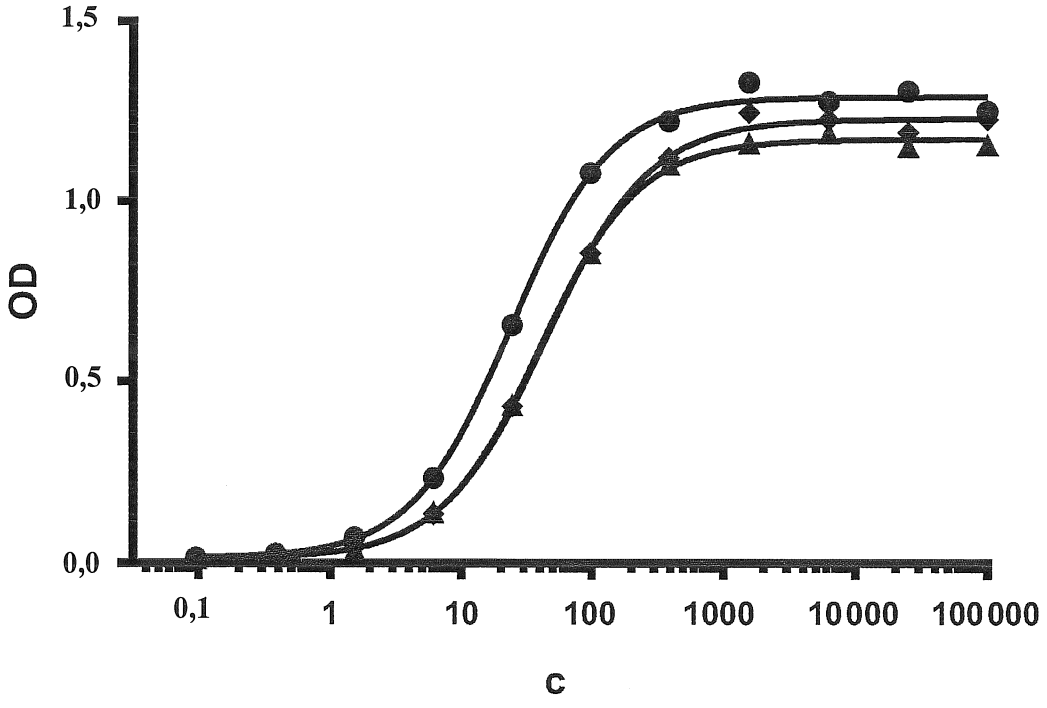

1,5
1,0
0,5
0,0
OD
0,1
1
10
100
1000
10000
100000
c

Fig. 6c

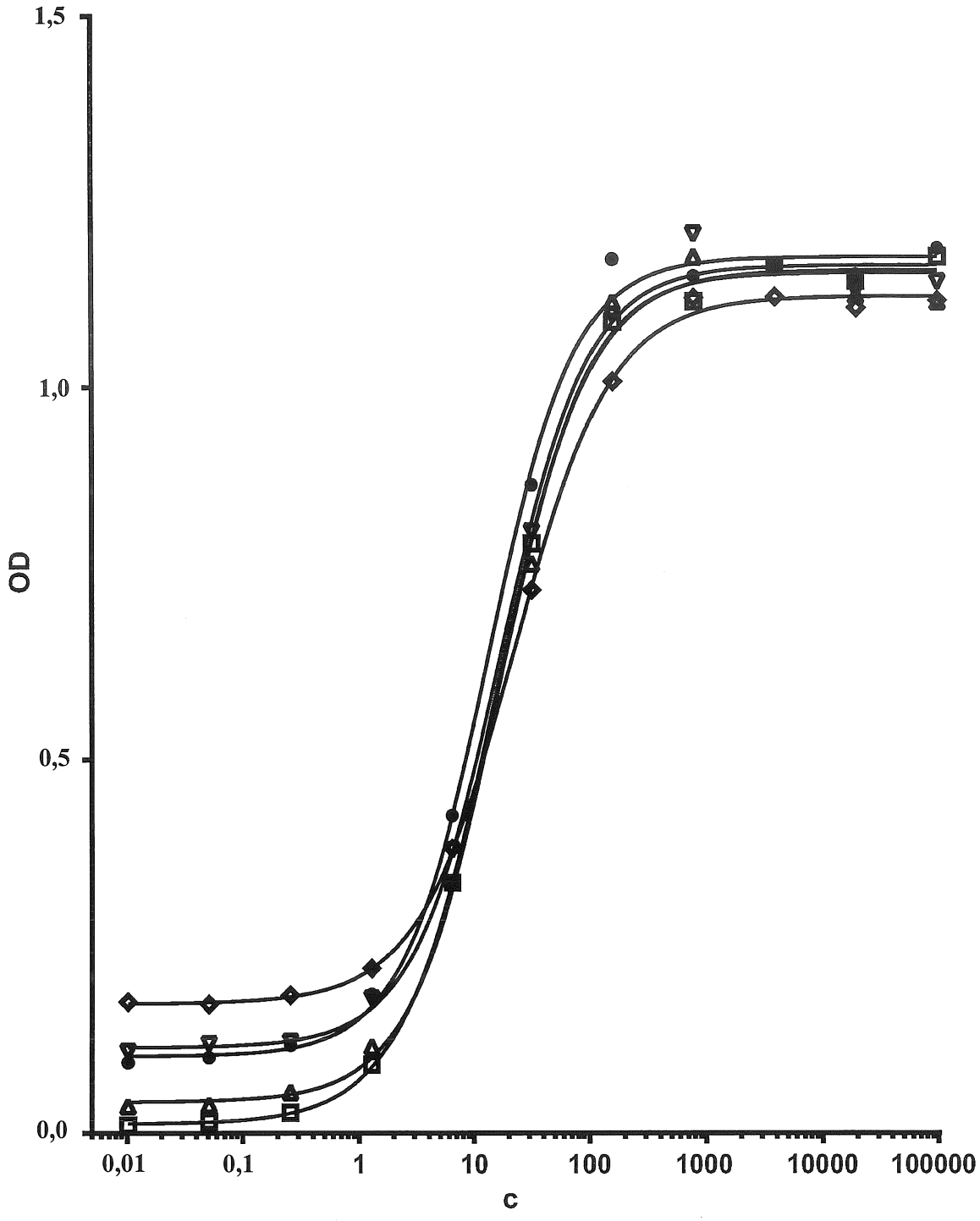


Fig. 7a

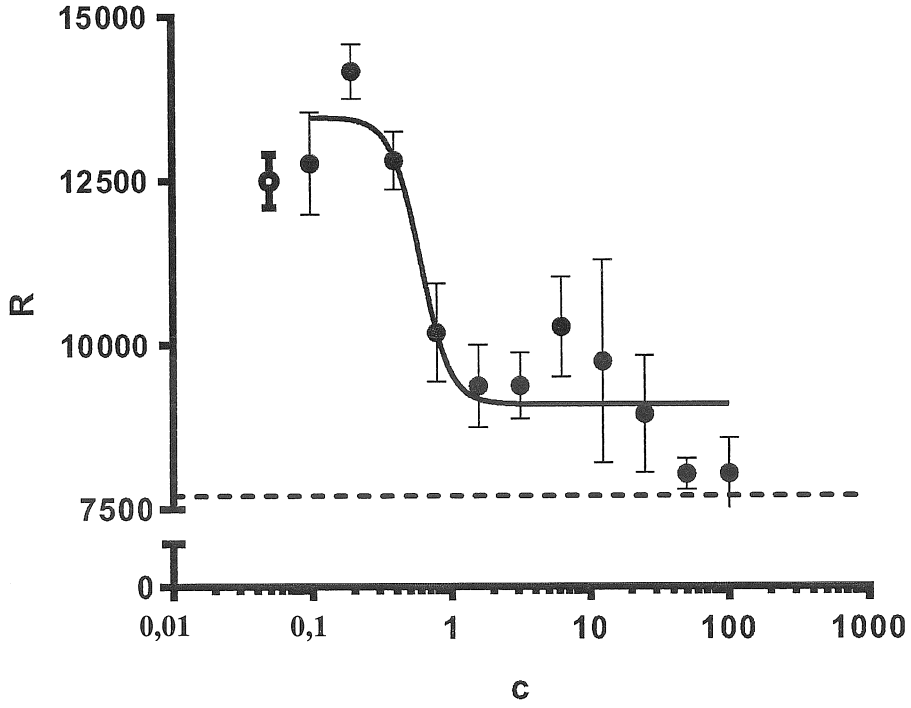

15000
12500
10000
7500
0
R
0,01
0,1
1
10
100
1000
c

Fig. 7b

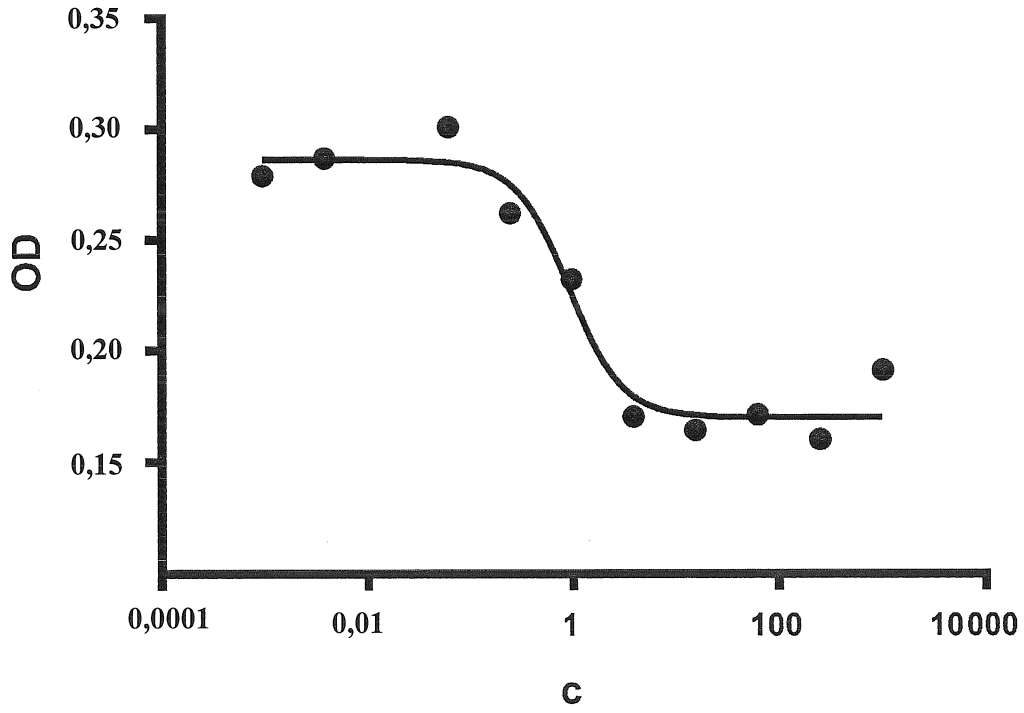

0,35
0,30
0,25
0,20
0,15
OD
0,0001
0,01
1
100
10000
c

Fig. 7c

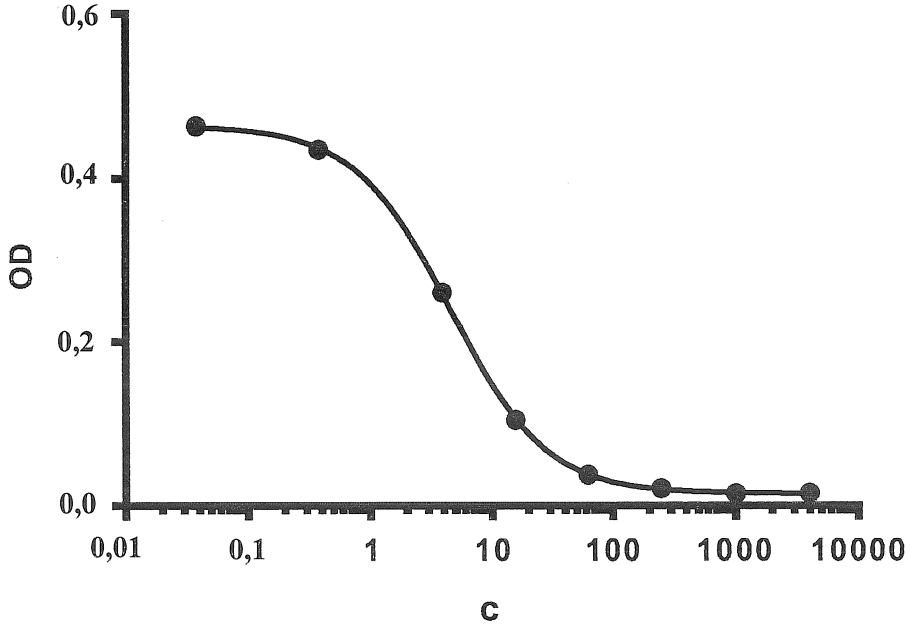

0,6
0,4
0,2
0,0
OD
0,01
0,1
1
10
100
1000
10000
c

Fig. 8

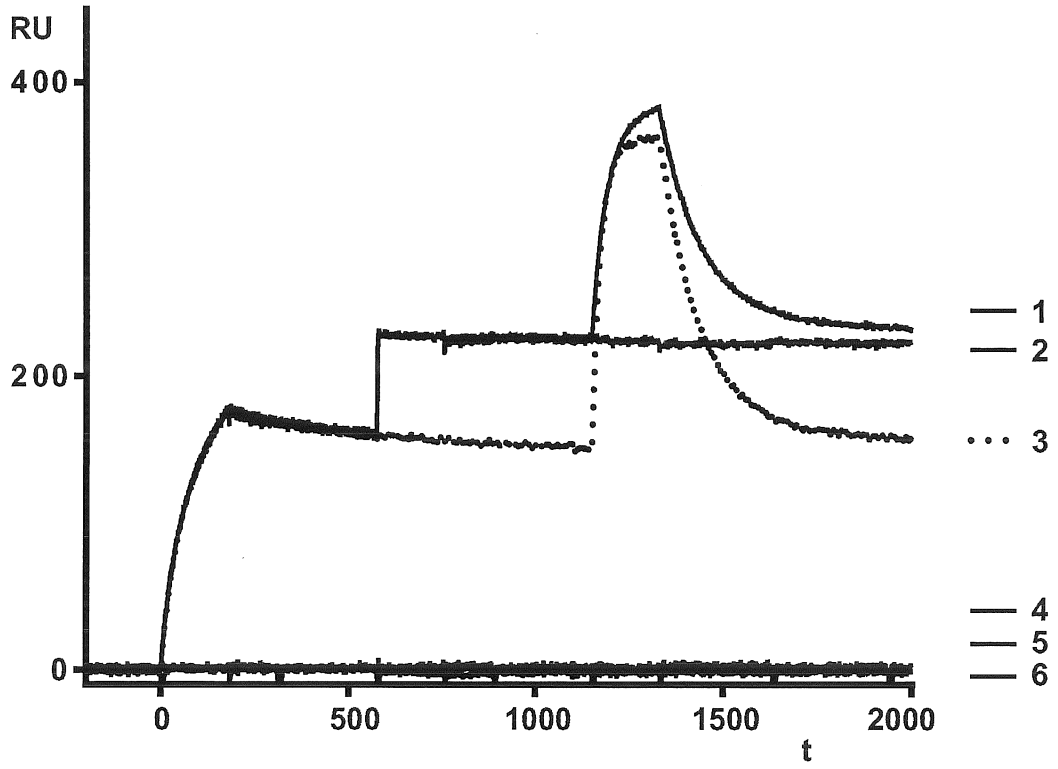

RU
400
200
0
0
500
1000
1500
2000
t
1
2
3
4
5
6

Fig. 9a

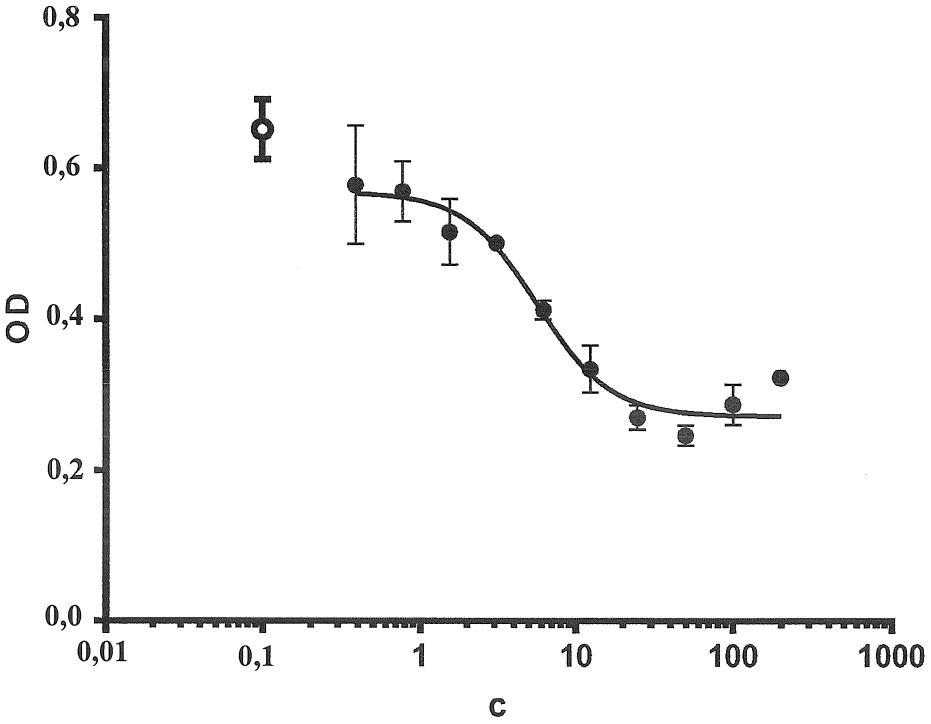

0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
OD
0,01
0,1
1
10
100
1000
c

Fig. 9b

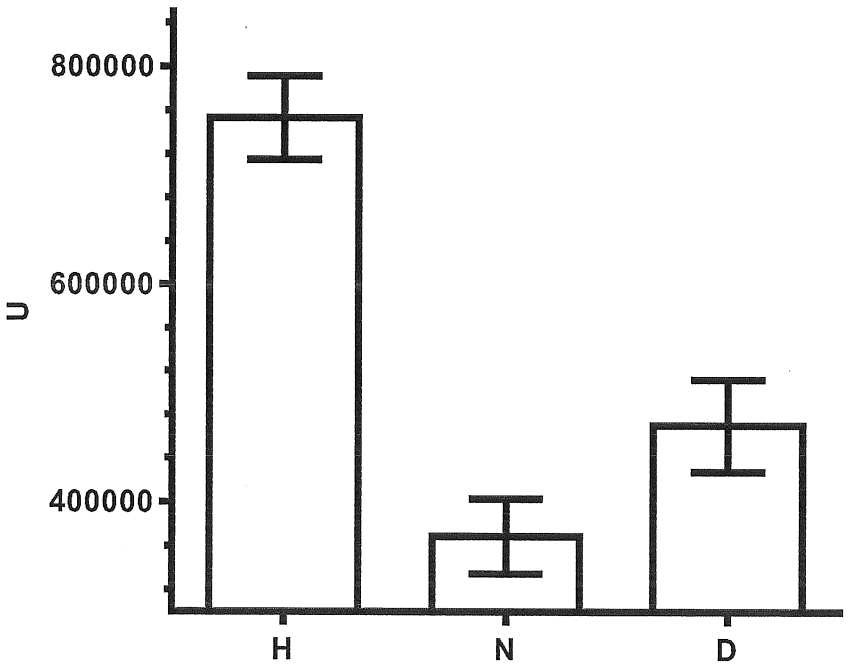

800000
600000
400000
U
H
N
D

Fig. 9c

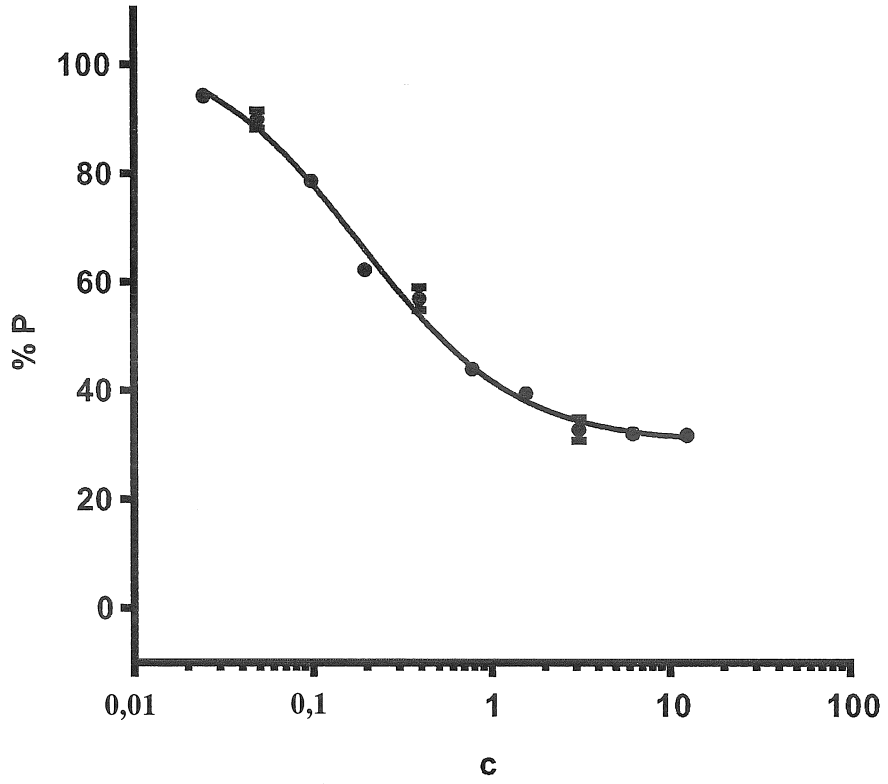


Fig. 10a

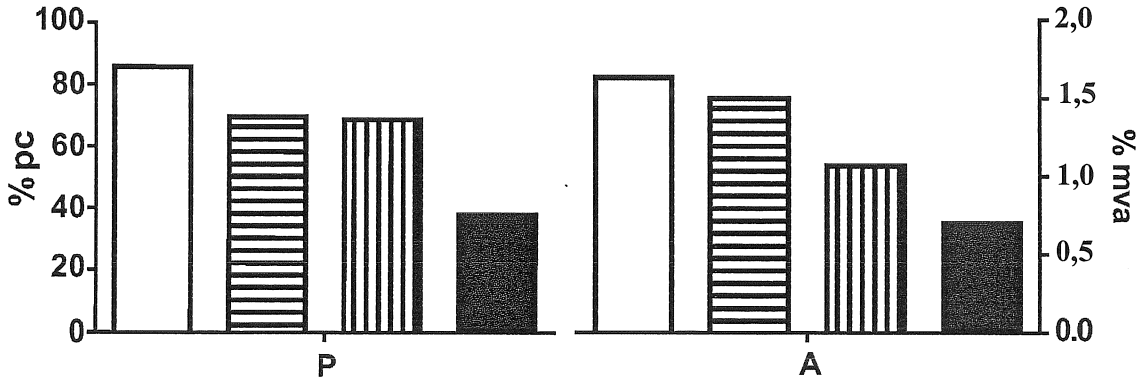


Fig. 10b

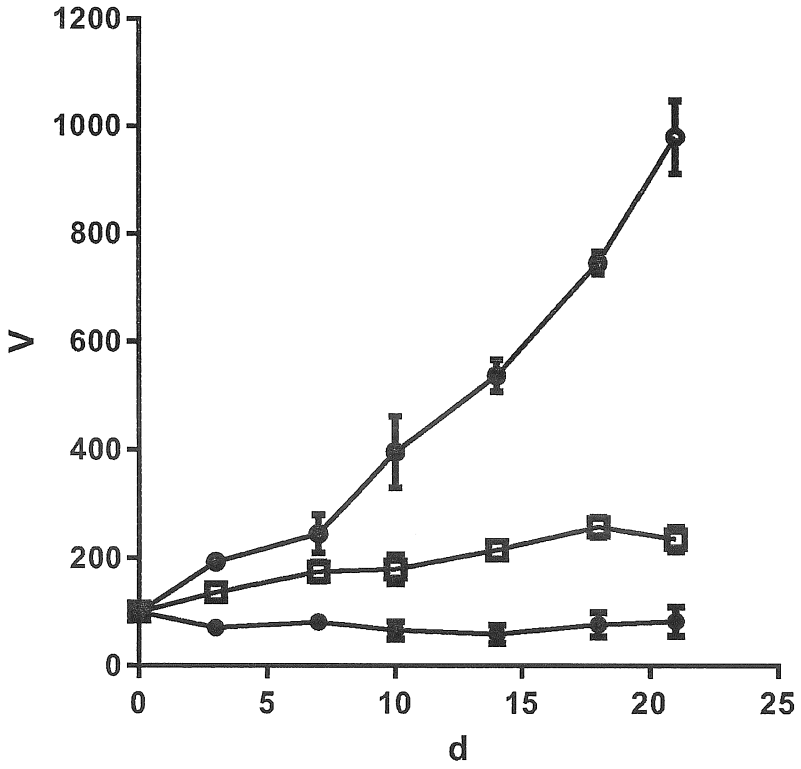
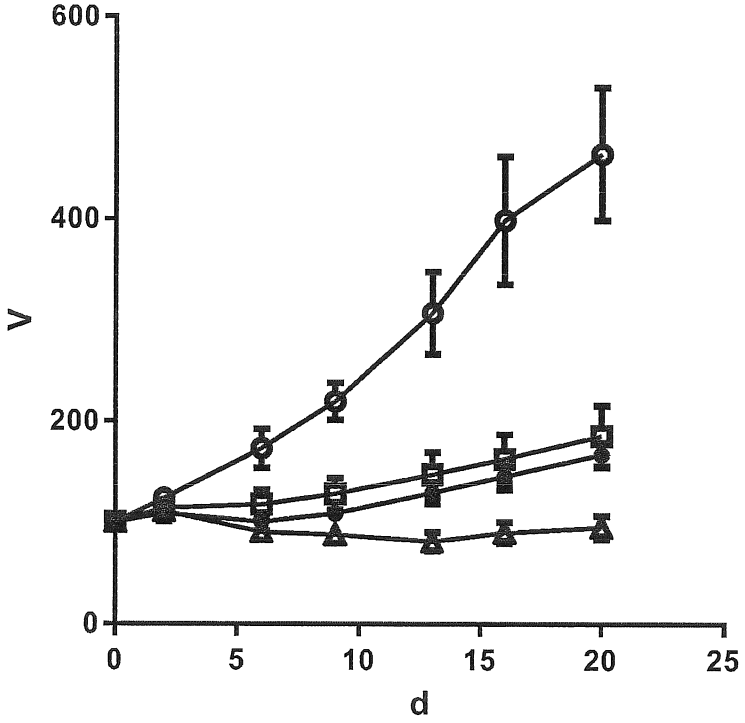


Fig. 10c



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> MOLECULAR PARTNERS AG

<120> PROTEIN LIÊN KẾT TÁI TỔ HỢP, AXIT NUCLEIC MÃ HÓA TRÌNH TỰ AXIT AMIN CỦA PROTEIN LIÊN KẾT TÁI TỔ HỢP VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA PROTEIN NÀY

<130> 1358/MA001/VN

<140> US/15/248,731

<141> 2016-08-26

<150> 15162511.8

<151> 2015-04-02

<150> 15162502.7

<151> 2015-04-02

<160> 181

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> His-tag

<400> 1

Met Arg Gly Ser His His His His His His Gly Ser

1 5 10

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Liên kết GS

<400> 2

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Liên kết GS

<400> 3

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 4

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Liên kết polypeptit

<400> 4

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Liên kết GS

<400> 5

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Ser

<210> 6

<211> 22

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Liên kết GS

<400> 6

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 Ser

20

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Liên kết PT

<400> 7

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser

1 5 10

<210> 8

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Liên kết PT

<400> 8

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly

1 5 10 15

Ser

<210> 9

<211> 24

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Liên kết PT

<400> 9

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

1 5 10 15

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser

20

<210> 10

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 10

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Thr Asp

20 25 30

Asn Asp Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Asn Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Ser

50 55 60

Asp Leu Thr Gly Ile Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Thr Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Tyr Asp Asn Asp Gly His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Lys Tyr Gly

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 11

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 11

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Lys Asp Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Glu Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Lys Asp Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly

100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 12

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 12

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Phe Asp

20 25 30

Trp Met Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Thr

50 55 60

Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Thr

85 90 95

Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu Gly

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 13

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 13

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu Gly

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 14

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 14

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Thr Ala Asp

20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala His

50 55 60

Asp Tyr Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Thr Leu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly

100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 15

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 15

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Thr Ala Asp

20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Val Pro Trp Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ile Gly His

65 70 75 80

Gln Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly

100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 16

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 16

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Ser Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Tyr Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 17

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 17

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Arg Asp
20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Ala
50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly
100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala
115 120

<210> 18

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 18

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
115 120

<210> 19

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 19

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 20

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 20

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Val Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 21

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 21

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Tyr Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 22

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 22

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly

100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 23

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 23

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Arg Phe Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu
50 55 60

Asp Trp Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Met Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Met Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly
100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn
115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn
130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala
145 150 155

<210> 24

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 24

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Arg Phe Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Trp Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Phe Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly
100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn
130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala
145 150 155

<210> 25

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 25

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu
50 55 60

Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly
100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
115 120 125

Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala
130 135 140

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
145 150 155

<210> 26

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 26

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu
50 55 60

Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly
100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
115 120 125

Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala
130 135 140

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
145 150 155

<210> 27

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 27

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu
50 55 60

Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly
100 105 110

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
115 120 125

Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala
130 135 140

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
145 150 155

<210> 28

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 28

Asp Leu Gly Met Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala His Asp

20 25 30

Thr Trp Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Phe His Gly His Gln

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

50 55 60

Asp Phe Tyr Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Leu Arg Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Gln Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly

100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 29

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 29

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Tyr

20 25 30

Glu Asp Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Phe Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Thr

50 55 60

Asp Ala Trp Gly His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Tyr Tyr Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Thr

85 90 95

His Asp Lys Glu Gly Met Thr Ala Leu His Leu Ala Ala Leu Thr Gly

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 30

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 30

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Thr His Asp

20 25 30

Asn Phe Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ile Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Phe

50 55 60

Asp Ser Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ser Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Leu Asp Tyr Asn Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Ser Gly

100 105 110

Arg Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 31

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 31

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Val Asp

20 25 30

Ala Trp Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ile Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Ala

50 55 60

Asp Tyr Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Asp Asn Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly

100 105 110

Arg Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 32

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 32

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Ile Asp

20 25 30

Thr Trp Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Leu

50 55 60

Asp Trp Phe Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Leu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Val Asp Thr Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly

100 105 110

Arg Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 33

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 33

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp

20 25 30

Arg Trp Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala Asp

50 55 60

Asp Val Phe Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Leu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Asp Asp Tyr Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 34

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 34

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp

20 25 30

Arg Trp Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala Asp

50 55 60

Asp Val Phe Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Leu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Asp Asp Tyr Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 35

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 35

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Asn Asp

20 25 30

Phe Leu Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Thr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala Ile

50 55 60

Asp Ala Tyr Gly His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asn Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Ile Asp His Phe Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Met Phe Gly

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 36

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 36

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Asn Asp

20 25 30

Ser Ser Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Phe Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala Asp

50 55 60

Asp Asp Trp Gly His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala His Tyr Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Ile Asp Thr Arg Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Ala Gly

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 37

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 37

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Ser Asp

20 25 30

Asp Thr Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Arg Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Asn

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Met Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Val Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

His Asp Asp Tyr Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Trp Arg

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 38

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 38

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Lys Ser Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Phe Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Phe Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Glu Thr Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Trp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Lys Asp Leu Tyr Gly Arg Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Lys Leu Arg

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 39

<211> 157

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 39

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Leu Asp

20 25 30

Gln Ile Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Leu Trp Gly Gln Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Trp Lys Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Lys Asp Thr Asp Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Arg Gly

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gin Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala

130 135 140

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

145 150 155

<210> 40

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 40

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Ser Gly Ala Asp Val Asn Ala Ala Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asp Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asp Ala Ser

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Asp Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly

100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 41

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 41

Asp Leu Gly Lys Glu Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Ala Asp
20 25 30

Tyr Phe Gly His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

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

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Ala Phe Glu Ile Ser Ile Asp Asn Gly
100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala
115 120

<210> 42

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 42

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Ala Asp
20 25 30

Tyr Phe Gly His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asp Gly His Leu
35 40 45

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

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly
100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala
115 120

<210> 43

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 43

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Ala Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asp Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala Ser

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly

100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 44

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 44

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 45

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 45

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 46

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 46

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Ala Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 47

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 47

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
115 120

<210> 48

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 48

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
115 120

<210> 49

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 49

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 50

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 50

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 51

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 51

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 52

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 52

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 53

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 53

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Phe Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Ala Asp
20 25 30

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu
35 40 45

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

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly
100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala
115 120

<210> 54

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 54

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
115 120

<210> 55

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 55

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 56

<211> 124

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 56

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Ser Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

115 120

<210> 57

<211> 159

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Miền lặp lại ankyrin được thiết kế có liên kết polypeptit đầu tận cùng-C

<400> 57

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro

115 120 125

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Asp Ile Thr Gly Leu Lys Leu Asn

145 150 155

<210> 58

<211> 302

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 58

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg

130 135 140

Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp

145 150 155 160

Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

165 170 175

Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His

180 185 190

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

195 200 205

Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly

210 215 220

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

225 230 235 240

Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr

245 250 255

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

260 265 270

Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp

275 280 285

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn

290 295 300

<210> 59

<211> 269

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 59

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg
130 135 140

Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp
145 150 155 160

Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
165 170 175

Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His
180 185 190

Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
195 200 205

Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly

210 215 220

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

225 230 235 240

Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala

245 250 255

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn

260 265

<210> 60

<211> 305

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 60

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

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

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp
180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala
210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala
225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala
245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu
275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala
290 295 300

Ala
305

<210> 61

<211> 272

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 61

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

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

Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro
180 185 190

Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

<210> 62

<211> 273

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 62

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro

115 120 125

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile

245 250 255

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu

260 265 270

Asn

<210> 63

<211> 269

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 63

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg
130 135 140

Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp
145 150 155 160

Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
165 170 175

Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His
180 185 190

Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
195 200 205

Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly

210 215 220

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn

225 230 235 240

Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala

245 250 255

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn

260 265

<210> 64

<211> 273

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 64

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro

115 120 125

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

Pro Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile

245 250 255

Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu

260 265 270

Asn

<210> 65

<211> 273

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 65

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro
130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg
145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp
165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala
180 185 190

Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala
195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala
210 215 220

Ala Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile

245 250 255

Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu

260 265 270

Asn

<210> 66

<211> 272

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 66

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro

180 185 190

Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser

245 250 255

Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

<210> 67

<211> 272

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm hai miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 67

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly

100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg

180 185 190

Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

<210> 68

<211> 488

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 68

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro

115 120 125

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

245 250 255

Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

260 265 270

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp

275 280 285

Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys

290 295 300

Leu Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Asp Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly

420 425 430

Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val

435 440 445

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe

450 455 460

Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu

465 470 475 480

Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu Asn

485

<210> 69

<211> 488

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 69

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro

115 120 125

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu

245 250 255

Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

260 265 270

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp
275 280 285

Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys
290 295 300

Leu Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly
420 425 430

Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val
435 440 445

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser
450 455 460

Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile
465 470 475 480

Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn
485

<210> 70

<211> 480

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 70

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg
130 135 140

Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp
145 150 155 160

Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
165 170 175

Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala Gly His

180 185 190

Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

195 200 205

Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly

210 215 220

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

225 230 235 240

Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr

245 250 255

Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

260 265 270

Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp

275 280 285

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly

290 295 300

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

305 310 315 320

Ser Arg Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly

325 330 335

Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

340 345 350

Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu

355 360 365

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

370 375 380

Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala

385 390 395 400

Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

405 410 415

Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala

420 425 430

Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

435 440 445

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser

450 455 460

Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu Asn

465 470 475 480

<210> 71

<211> 480

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 71

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg

130 135 140

Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp

145 150 155 160

Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

165 170 175

Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His

180 185 190

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

195 200 205

Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly

210 215 220

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

225 230 235 240

Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu

245 250 255

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

260 265 270

Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp

275 280 285

Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly

290 295 300

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

305 310 315 320

Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly

325 330 335

Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

340 345 350

Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala

355 360 365

Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

370 375 380

Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser

385 390 395 400

Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

405 410 415

Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

420 425 430

Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

435 440 445

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

450 455 460

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn

465 470 475 480

<210> 72

<211> 455

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 72

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro

115 120 125

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

245 250 255

Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

260 265 270

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp

275 280 285

Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys

290 295 300

Leu Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Asp Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Tyr Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Gln Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn

450 455

<210> 73

<211> 422

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 73

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro
130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg
145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp
165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

Pro Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile

245 250 255

Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met

305 310 315 320

Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro

325 330 335

Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys

385 390 395 400

Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

405 410 415

Val Leu Gln Lys Leu Asn
420

<210> 74
<211> 422
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế
<400> 74
Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15
Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30
Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45
Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60
Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80
Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95
Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110
His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro
115 120 125
Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro
130 135 140
Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile

245 250 255

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu

290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met

305 310 315 320

Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro

325 330 335

Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys

385 390 395 400

Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu

405 410 415

Ile Leu Gln Lys Leu Asn

420

<210> 75

<211> 422

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 75

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro

115 120 125

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile

245 250 255

Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met

305 310 315 320

Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro

325 330 335

Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys

385 390 395 400

Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

405 410 415

Val Leu Gln Lys Leu Asn

420

<210> 76

<211> 422

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 76

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro

115 120 125

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile

245 250 255

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met

305 310 315 320

Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr Pro

325 330 335

Leu His Leu Ala Ala Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Aia Asp Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys

385 390 395 400

Thr Ala Phe Asp Ile Ser ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu

405 410 415

Ile Leu Gln Lys Leu Asn

420

<210> 77

<211> 420

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 77

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val

180 185 190

Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp

210 215 220

Ser Ser Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His

325 330 335

Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala

385 390 395 400

Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu

405 410 415

Gln Lys Ala Ala

420

<210> 78

<211> 420

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 78

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro

180 185 190

Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser

245 250 255

Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His

325 330 335

Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro

385 390 395 400

Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu

405 410 415

Gln Lys Ala Ala

420

<210> 79

<211> 420

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 79

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
165 170 175

Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg
180 185 190

Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala
210 215 220

Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala
225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala
245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu
290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala
305 310 315 320

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

Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro
385 390 395 400

Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu
405 410 415

Gln Lys Ala Ala
420

<210> 80

<211> 420

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 80

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val
165 170 175

Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro
180 185 190

Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser

245 250 255

Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His

325 330 335

Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro

385 390 395 400

Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu

405 410 415

Gln Lys Ala Ala

420

<210> 81

<211> 420

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 81

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
165 170 175
Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg
180 185 190
Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205
Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala
210 215 220
Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala
225 230 235 240
Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala
245 250 255
Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
260 265 270
Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
275 280 285
Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu
290 295 300
Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn
305 310 315 320
Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His
325 330 335
Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
340 345 350
Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu
355 360 365
His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380
Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala

385 390 395 400

Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu

405 410 415

Gln Lys Ala Ala

420

<210> 82

<211> 422

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 82

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro

115 120 125

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile

245 250 255

Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met

305 310 315 320

Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr Pro

325 330 335

Leu His Leu Ala Ala Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys

385 390 395 400

Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu

405 410 415

Ile Leu Gln Lys Leu Asn

420

<210> 83

<211> 486

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 83

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Lys Ser Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg

180 185 190

Phe Gly His Leu Glu Ile Val Glu Phe Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Glu Thr Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ile Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Tyr Gly Arg Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Lys Leu Arg His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile

275 280 285

Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Leu Asp Gln Ile Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Asn Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Trp Gly Gln Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Trp Lys Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Thr Asp Gly Leu Thr

420 425 430

Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Arg Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

435 440 445

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys

450 455 460

Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

465 470 475 480

Val Leu Gln Lys Ala Ala

485

<210> 84

<211> 486

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 84

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Lys Ser Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Phe Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Phe Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Glu Thr Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Trp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Lys Asp Leu Tyr Gly Arg Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Lys Leu Arg

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro

145 150 155 160

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro

165 170 175

Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

180 185 190

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Leu Asp Gln Ile Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Asn Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Trp Gly Gln Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Trp Lys Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Thr Asp Gly Leu Thr Pro Leu His Leu

275 280 285

Ala Ala Ile Arg Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

290 295 300

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp

305 310 315 320

Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys

325 330 335

Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

340 345 350

Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

355 360 365

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

435 440 445

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys

450 455 460

Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

465 470 475 480

Val Leu Gln Lys Ala Ala

485

<210> 85

<211> 453

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 85

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala

450

<210> 86

<211> 449

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 86

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

130 135 140

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

145 150 155 160

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

165 170 175

Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly

180 185 190

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

195 200 205

Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr

210 215 220

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

225 230 235 240

Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn

245 250 255

Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

260 265 270

Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala

275 280 285

Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly

290 295 300

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

305 310 315 320

Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

325 330 335

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

340 345 350

Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

355 360 365

Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

370 375 380

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala

385 390 395 400

Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

405 410 415

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

420 425 430

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

435 440 445

Ala

<210> 87

<211> 453

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 87

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu

50 55 60

Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala

130 135 140

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro

145 150 155 160

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro

165 170 175

Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

180 185 190

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala

450

<210> 88

<211> 480

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 88

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg
130 135 140

Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp
145 150 155 160

Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
165 170 175

Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His

180 185 190

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

195 200 205

Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly

210 215 220

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

225 230 235 240

Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu

245 250 255

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

260 265 270

Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp

275 280 285

Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly

290 295 300

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

305 310 315 320

Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly

325 330 335

Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

340 345 350

Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala

355 360 365

Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

370 375 380

Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser

385 390 395 400

Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

405 410 415

Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

420 425 430

Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

435 440 445

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

450 455 460

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn

465 470 475 480

<210> 89

<211> 453

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 89

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Giu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Aia Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala

450

<210> 90

<211> 453

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 90

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu
275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala
290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu
325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys
340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro
385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu
405 410 415

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

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val
435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala
450

<210> 91

<211> 449

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 91

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
145 150 155 160

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
165 170 175

Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly
180 185 190

His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
195 200 205

Ala Lys Asp Tyr Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val
210 215 220

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
225 230 235 240

Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp
245 250 255

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly
260 265 270

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
275 280 285

Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
290 295 300

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
305 310 315 320

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp
325 330 335

Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
340 345 350

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala
355 360 365

Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala
370 375 380

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala
385 390 395 400

Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
405 410 415

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

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

435 440 445

Ala

<210> 92

<211> 453

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 92

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala

450

<210> 93

<211> 453

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 93

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro

180 185 190

Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His

325 330 335

Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala

450

<210> 94

<211> 453

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm ba miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 94

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly

100 105 110

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu
275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala
290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu
325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala
340 345 350

Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro
385 390 395 400

Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu
405 410 415

Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr
420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val
435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala
450

<210> 95

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 95

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

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

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp
180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser

500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala

530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile

565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 96

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 96

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val
165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp
180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser

500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala

530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile

565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 97

<211> 637

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 97

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro

115 120 125

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu
245 250 255

Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
260 265 270

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp
275 280 285

Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys
290 295 300

Leu Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Asp Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly
420 425 430

Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val
435 440 445

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe
450 455 460

Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu

465 470 475 480

Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

485 490 495

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg

500 505 510

Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp

515 520 525

Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

530 535 540

Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His

545 550 555 560

Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

565 570 575

Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly

580 585 590

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn

595 600 605

Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala

610 615 620

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn

625 630 635

<210> 98

<211> 637

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 98

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro

115 120 125

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu

245 250 255

Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

260 265 270

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp

275 280 285

Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys

290 295 300

Leu Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly

420 425 430

Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val

435 440 445

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser

450 455 460

Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile

465 470 475 480

Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

485 490 495

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg

500 505 510

Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp

515 520 525

Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

530 535 540

Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His

545 550 555 560

Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

565 570 575

Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly

580 585 590

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn

595 600 605

Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala

610 615 620

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn

625 630 635

<210> 99

<211> 625

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 99

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg
130 135 140

Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp
145 150 155 160

Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
165 170 175

Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala Gly His
180 185 190

Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
195 200 205

Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly
210 215 220

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
225 230 235 240

Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr
245 250 255

Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
260 265 270

Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp
275 280 285

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly
290 295 300

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
305 310 315 320

Ser Arg Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly
325 330 335

Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
340 345 350

Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu
355 360 365

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
370 375 380

Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala
385 390 395 400

Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
405 410 415

Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala
420 425 430

Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala
435 440 445

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser

450 455 460

Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu Gly

465 470 475 480

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

485 490 495

Gly Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

500 505 510

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp

515 520 525

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

530 535 540

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

545 550 555 560

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala

565 570 575

Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly

580 585 590

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile

595 600 605

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu

610 615 620

Asn

625

<210> 100

<211> 625

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 100

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Arg
130 135 140

Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp
145 150 155 160

Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
165 170 175

Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His
180 185 190

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
195 200 205

Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly

210 215 220

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

225 230 235 240

Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu

245 250 255

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

260 265 270

Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp

275 280 285

Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu Gly Gly Gly

290 295 300

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

305 310 315 320

Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly

325 330 335

Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

340 345 350

Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala

355 360 365

Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

370 375 380

Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser

385 390 395 400

Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

405 410 415

Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

420 425 430

Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

435 440 445

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

450 455 460

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly

465 470 475 480

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

485 490 495

Gly Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

500 505 510

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp

515 520 525

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

530 535 540

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

545 550 555 560

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala

565 570 575

Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly

580 585 590

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile

595 600 605

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu

610 615 620

Asn

625

<210> 101

<211> 595

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 101

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
145 150 155 160

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
165 170 175

Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly
180 185 190

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
195 200 205

Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr
210 215 220

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
225 230 235 240

Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn
245 250 255

Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
260 265 270

Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala
275 280 285

Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly
290 295 300

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
305 310 315 320

Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg
325 330 335

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
340 345 350

Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala
355 360 365

Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala
370 375 380

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala
385 390 395 400

Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
405 410 415

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

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

435 440 445

Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

450 455 460

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala

465 470 475 480

Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly

485 490 495

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu

500 505 510

Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

515 520 525

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His

530 535 540

Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

545 550 555 560

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala

565 570 575

Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

580 585 590

Lys Ala Ala

595

<210> 102

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 102

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser

500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala

530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile

565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 103

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 103

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu
275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala
290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu
325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys
340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro
385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu
405 410 415

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

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val
435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
450 455 460

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

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser

500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala

530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile

565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 104

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 104

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser

500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala

530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile

565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 105

<211> 595

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 105

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

130 135 140

Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

145 150 155 160

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

165 170 175

Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly

180 185 190

His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

195 200 205

Ala Lys Asp Tyr Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val

210 215 220

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

225 230 235 240

Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp

245 250 255

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly

260 265 270

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

275 280 285

Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

290 295 300

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

305 310 315 320

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

325 330 335

Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

340 345 350

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

355 360 365

Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

370 375 380

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

385 390 395 400

Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

405 410 415

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

420 425 430

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

435 440 445

Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

450 455 460

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala

465 470 475 480

Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly

485 490 495

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu

500 505 510

Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

515 520 525

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His

530 535 540

Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

545 550 555 560

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala

565 570 575

Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

580 585 590

Lys Ala Ala

595

<210> 106

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 106

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser

500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala

530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile
565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp
580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
595 600

<210> 107

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 107

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro

180 185 190

Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His

325 330 335

Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro
385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu
405 410 415

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

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val
435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
450 455 460

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

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg
485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser
500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val
515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala
530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile
545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile
565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 108

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 108

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

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

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly

500 505 510

Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln

530 535 540

Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 109

<211> 571

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 109

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro
130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg
145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp

165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

180 185 190

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala

210 215 220

Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile

245 250 255

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met

305 310 315 320

Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr Pro

325 330 335

Leu His Leu Ala Ala Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Lys Asp Gly Tyr Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys

385 390 395 400

Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu

405 410 415

Ile Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

420 425 430

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp

435 440 445

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

450 455 460

Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Lys

465 470 475 480

Asp Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Glu Gly His Leu Glu

485 490 495

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

500 505 510

Lys Asp Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Glu Gly His Leu

515 520 525

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

530 535 540

Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn

545 550 555 560

Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu Asn

565 570

<210> 110

<211> 634

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 110

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
165 170 175

Asn Ala Lys Asp Lys Ser Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg
180 185 190

Phe Gly His Leu Glu Ile Val Glu Phe Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

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

Ile Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Tyr Gly Arg Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Lys Leu Arg His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile

275 280 285

Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Leu Asp Gln Ile Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Asn Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Trp Gly Gln Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Trp Lys Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Thr Asp Gly Leu Thr

420 425 430

Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Arg Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

435 440 445

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys

450 455 460

Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

465 470 475 480

Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro

485 490 495

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu

500 505 510

Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val

515 520 525

Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe

530 535 540

Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe

565 570 575

Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu

580 585 590

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp

595 600 605

Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu

610 615 620

Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

625 630

<210> 111

<211> 634

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 111

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
165 170 175

Asn Ala Lys Asp Lys Ser Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg
180 185 190

Phe Gly His Leu Glu Ile Val Glu Phe Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Glu Thr Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ile Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Tyr Gly Arg Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Lys Leu Arg His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile

275 280 285

Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Leu Asp Gln Ile Gly

500 505 510

Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Tyr Gly His Leu Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Trp

530 535 540

Gly Gln Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Trp Lys Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Thr

565 570 575

Asp Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Arg Gly His Leu Glu

580 585 590

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp

595 600 605

Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu

610 615 620

Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

625 630

<210> 112

<211> 634

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 112

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
165 170 175

Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg
180 185 190

Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Lys Ser Gly Asn Thr Pro Leu His

325 330 335

Leu Ala Ala Arg Phe Gly His Leu Glu Ile Val Glu Phe Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Thr Gly Lys Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Ile Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Tyr Gly Arg Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Lys Leu Arg His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr

420 425 430

Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Leu Asp Gln Ile Gly

500 505 510

Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Tyr Gly His Leu Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Trp

530 535 540

Gly Gln Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Trp Lys Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Thr

565 570 575

Asp Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Arg Gly His Leu Glu

580 585 590

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp

595 600 605

Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu

610 615 620

Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

625 630

<210> 113

<211> 634

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 113

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Lys Ser Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Phe Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Phe Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Glu Thr Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Trp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Lys Asp Leu Tyr Gly Arg Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Lys Leu Arg
100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn
130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro
145 150 155 160

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro
165 170 175

Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg
180 185 190

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Leu Asp Gln Ile Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Asn Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Trp Gly Gln Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Trp Lys Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Thr Asp Gly Leu Thr

420 425 430

Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Arg Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val
435 440 445

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys
450 455 460

Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu
465 470 475 480

Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro
485 490 495

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu
500 505 510

Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val
515 520 525

Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe
530 535 540

Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile
545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe
565 570 575

Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu
580 585 590

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp
595 600 605

Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu
610 615 620

Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
625 630

<210> 114

<211> 634

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 114

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Lys Ser Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Phe Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Phe Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Glu Thr Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Trp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Lys Asp Leu Tyr Gly Arg Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Lys Leu Arg
100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn
130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro
145 150 155 160

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro
165 170 175

Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg
180 185 190

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Leu Asp Gln Ile Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Asn Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Trp Gly Gln Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Trp Lys Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Thr Asp Gly Leu Thr Pro Leu His Leu

275 280 285

Ala Ala Ile Arg Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

290 295 300

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp

305 310 315 320

Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys

325 330 335

Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

340 345 350

Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

355 360 365

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

435 440 445

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys

450 455 460

Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

465 470 475 480

Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro

485 490 495

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu

500 505 510

Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val

515 520 525

Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe

530 535 540

Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe

565 570 575

Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu

580 585 590

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp

595 600 605

Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu

610 615 620

Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

625 630

<210> 115

<211> 634

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 115

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Lys Ser Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Phe Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Phe Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Glu Thr Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Trp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Lys Asp Leu Tyr Gly Arg Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Lys Leu Arg
100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
115 120 125

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn
130 135 140

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro
145 150 155 160

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro
165 170 175

Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

180 185 190

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr
420 425 430

Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val
435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
450 455 460

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

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg
485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Leu Asp Gln Ile Gly
500 505 510

Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Tyr Gly His Leu Glu Ile Val
515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Leu Trp
530 535 540

Gly Gln Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Trp Lys Gly His Leu Glu Ile
545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Thr
565 570 575

Asp Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ile Arg Gly His Leu Glu
580 585 590

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp
595 600 605

Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu
610 615 620

Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
625 630

<210> 116

<211> 595

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 116

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
145 150 155 160

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
165 170 175

Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly

180 185 190

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

195 200 205

Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr

210 215 220

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

225 230 235 240

Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn

245 250 255

Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

260 265 270

Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala

275 280 285

Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly

290 295 300

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

305 310 315 320

Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

325 330 335

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

340 345 350

Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

355 360 365

Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

370 375 380

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala

385 390 395 400

Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

405 410 415

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

420 425 430

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

435 440 445

Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

450 455 460

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala

465 470 475 480

Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly

485 490 495

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu

500 505 510

Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

515 520 525

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His

530 535 540

Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

545 550 555 560

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala

565 570 575

Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

580 585 590

Lys Ala Ala

595

<210> 117

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 117

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu
50 55 60

Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly
100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
115 120 125

Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala
130 135 140

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro
145 150 155 160

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro
165 170 175

Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg
180 185 190

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser

500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala

530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile

565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 118

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 118

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu
50 55 60

Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly
100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
115 120 125

Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala
130 135 140

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro
145 150 155 160

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro
165 170 175

Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg
180 185 190

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala
210 215 220

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser

500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala

530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile

565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 119

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 119

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg

180 185 190

Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His

325 330 335

Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly

500 505 510

Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln

530 535 540

Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 120

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 120

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu

50 55 60

Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly

100 105 110

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

115 120 125

Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala

130 135 140

Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro

145 150 155 160

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro

165 170 175

Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

180 185 190

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile
275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala
290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu
325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys
340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro
385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu
405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr
420 425 430

Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val
435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
450 455 460

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

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg
485 490 495

Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly

500 505 510

Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln

530 535 540

Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 121

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 121

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly

500 505 510

Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln

530 535 540

Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 122

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 122

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro

180 185 190

Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser

245 250 255

Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His
325 330 335

Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro
385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu
405 410 415

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

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val
435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
450 455 460

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

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg
485 490 495

Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly
500 505 510

Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu Ile Val
515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr
530 535 540

Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Vai Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 123

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 123

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly

100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

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

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp
180 185 190

Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala
210 215 220

Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala
225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala
245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu
275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala
290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu
325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala

340 345 350

Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

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

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly

500 505 510

Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr

530 535 540

Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 124

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 124

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu

35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val

180 185 190

Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp

210 215 220

Ser Ser Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His

325 330 335

Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala

385 390 395 400

Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu

405 410 415

Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro

420 425 430

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys

435 440 445

Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile

450 455 460

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp

465 470 475 480

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu

485 490 495

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly

500 505 510

Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala

530 535 540

Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 125

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 125

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val
165 170 175

Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro
180 185 190

Trp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala
210 215 220

Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala
225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser
245 250 255

Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala
260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu
290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn
305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His
325 330 335

Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro

385 390 395 400

Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu

405 410 415

Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro

420 425 430

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys

435 440 445

Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile

450 455 460

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp

465 470 475 480

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu

485 490 495

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly

500 505 510

Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala

530 535 540

Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 126

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 126

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val
165 170 175

Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val

180 185 190

Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp

210 215 220

Ser Ser Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His

325 330 335

Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro

385 390 395 400

Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu

405 410 415

Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro
420 425 430

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys
435 440 445

Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile
450 455 460

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp
465 470 475 480

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu
485 490 495

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly
500 505 510

Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val
515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala
530 535 540

Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile
545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys
565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp
580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
595 600

<210> 127

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 127

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Leu
35 40 45

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val
165 170 175

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

Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp
210 215 220

Ser Ser Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala
225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala
245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu
290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala
305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His
325 330 335

Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro
385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu
405 410 415

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

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly

500 505 510

Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr

530 535 540

Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 128

<211> 637

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 128

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro
130 135 140

Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg
145 150 155 160

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp
165 170 175

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala
180 185 190

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala
195 200 205

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala
210 215 220

Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly

225 230 235 240

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile

245 250 255

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu

305 310 315 320

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro

325 330 335

Leu His Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Leu Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro

450 455 460

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Arg Ser

465 470 475 480

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

485 490 495

Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

500 505 510

Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His Leu

515 520 525

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

530 535 540

Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly His

545 550 555 560

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

565 570 575

Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu Gly

580 585 590

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

595 600 605

Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn

610 615 620

Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu Asn

625 630 635

<210> 129

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 129

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp
1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu
35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His
65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly
100 105 110

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

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

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

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp
180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala
210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly

500 505 510

Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr

530 535 540

Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 130

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 130

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser

500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala

530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile

565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 131

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 131

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu
275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala
290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu
325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys
340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro
385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu
405 410 415

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

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val
435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
450 455 460

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

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg
485 490 495

Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly

500 505 510

Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr

530 535 540

Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 132

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 132

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg

180 185 190

Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His

325 330 335

Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly

500 505 510

Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln

530 535 540

Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 133

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 133

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

1 5 10 15

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

20 25 30

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

35 40 45

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

50 55 60

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

65 70 75 80

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

85 90 95

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

100 105 110

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val

180 185 190

Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp

210 215 220

Ser Ser Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

275 280 285

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu

290 295 300

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala

305 310 315 320

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His
325 330 335

Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro
385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu
405 410 415

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

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val
435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
450 455 460

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

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg
485 490 495

Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly
500 505 510

Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val
515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln
530 535 540

Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

565 570 575

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 134

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 134

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala
145 150 155 160

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

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala
180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu
210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His
245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 135

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 135

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp

245 250 255

Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys

260 265 270

Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

275 280 285

Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu

305 310 315 320

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro

325 330 335

Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly
420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala
435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp
465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu
485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr
500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys
515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu
545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln
565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His
580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 136

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 136

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly
35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp
100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala
145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala
165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala
180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu
210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His
245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 137

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 137

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly
35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp
100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala
145 150 155 160

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

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly
420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala
435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp
465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu
485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr
500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys
515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu
545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln
565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His
580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
595 600

<210> 138

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 138

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly
35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp
100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala
145 150 155 160

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

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala
180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu
210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His
245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly
420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 139

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 139

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 140

<211> 636

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 140

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly
420 425 430

Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val
435 440 445

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe
450 455 460

Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu
465 470 475 480

Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr

485 490 495

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser

500 505 510

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

515 520 525

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

545 550 555 560

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

565 570 575

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His

580 585 590

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

595 600 605

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

610 615 620

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

625 630 635

<210> 141

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 141

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 142

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 142

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Phe Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Trp Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Met Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Met Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe
275 280 285

Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly
420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala
435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp
465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu
485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 143

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 143

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 144

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 144

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly
420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala
435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp
465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu
485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr
500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys
515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 145

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 145

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala
145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala
165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala
180 185 190

Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu
210 215 220

Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp
245 250 255

Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys
260 265 270

Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro
275 280 285

Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu
290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu
305 310 315 320

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro
325 330 335

Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser

500 505 510

Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 146

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 146

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser

500 505 510

Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 147

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 147

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly
35 40 45

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn
100 105 110

Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
115 120 125

Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala
130 135 140

Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly
145 150 155 160

Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro
165 170 175
Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala
180 185 190
Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly
195 200 205
Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu
210 215 220
Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
225 230 235 240
Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His
245 250 255
Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270
Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285
Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300
Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320
Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys
325 330 335
Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350
Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr
355 360 365
Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val
370 375 380
Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 148

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 148

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly
35 40 45

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn
100 105 110

Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
115 120 125

Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala
130 135 140

Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly
145 150 155 160

Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro
165 170 175

Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala

180 185 190

Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly
420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Iie Ala
435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp
465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu
485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr
500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys
515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu
545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln
565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His
580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala
595 600

<210> 149

<211> 597

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 149

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly
35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp
100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

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

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp
180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp
195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

305 310 315 320

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala

325 330 335

Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly

340 345 350

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu

355 360 365

Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

370 375 380

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His

385 390 395 400

Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

405 410 415

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

420 425 430

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

435 440 445

Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu

465 470 475 480

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys

485 490 495

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu

500 505 510

His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu

515 520 525

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro

530 535 540

Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

545 550 555 560

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr

565 570 575

Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

580 585 590

Leu Gln Lys Ala Ala

595

<210> 150

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 150

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 151

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 151

Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly

35 40 45

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly
420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala
435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp
465 470 475 480

Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu

500 505 510

Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn

530 535 540

Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 152

<211> 597

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 152

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro

180 185 190

Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

275 280 285

Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

290 295 300

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

305 310 315 320

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

325 330 335

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

340 345 350

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

355 360 365

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

370 375 380

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

385 390 395 400

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

405 410 415

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

420 425 430

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

435 440 445

Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu

465 470 475 480

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys

485 490 495

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu

500 505 510

His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu

515 520 525

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro

530 535 540

Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

545 550 555 560

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr

565 570 575

Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

580 585 590

Leu Gln Lys Ala Ala

595

<210> 153

<211> 582

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 153

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

130 135 140

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

145 150 155 160

Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg

165 170 175

Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu Glu

180 185 190

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp

195 200 205

Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu

210 215 220

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

225 230 235 240

Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His

245 250 255

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

260 265 270

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

275 280 285

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr

290 295 300

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp
305 310 315 320
Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg
325 330 335
Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly
340 345 350
Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val
355 360 365
Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln
370 375 380
Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile
385 390 395 400
Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys
405 410 415
Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp
420 425 430
Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro
435 440 445
Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu
450 455 460
Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu
465 470 475 480
Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro
485 490 495
Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu
500 505 510
Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr
515 520 525
Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

530 535 540

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys

545 550 555 560

Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

565 570 575

Val Leu Gln Lys Ala Ala

580

<210> 154

<211> 561

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 154

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu
130 135 140

Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His
165 170 175

Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
180 185 190

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu
195 200 205

His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
210 215 220

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro
225 230 235 240

Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu
245 250 255

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr
260 265 270

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val
275 280 285

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp
290 295 300

Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu
305 310 315 320

Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser
325 330 335

Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu

340 345 350

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

355 360 365

Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu

370 375 380

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

385 390 395 400

Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His

405 410 415

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro

420 425 430

Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg

435 440 445

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

450 455 460

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

465 470 475 480

Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

485 490 495

Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala

500 505 510

Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

515 520 525

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile

530 535 540

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

545 550 555 560

Ala

<210> 155

<211> 582

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 155

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly
35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp
100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp
130 135 140

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu
145 150 155 160

Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg
165 170 175

Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu Glu
180 185 190

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp
195 200 205

Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu
210 215 220

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys
225 230 235 240

Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His
245 250 255

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
260 265 270

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly
275 280 285

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly
290 295 300

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp
305 310 315 320

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg
325 330 335

Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly
340 345 350

Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val
355 360 365

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln
370 375 380

Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile
385 390 395 400

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

405 410 415

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

420 425 430

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

450 455 460

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu

465 470 475 480

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro

485 490 495

Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu

500 505 510

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr

515 520 525

Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

530 535 540

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys

545 550 555 560

Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

565 570 575

Val Leu Gln Lys Ala Ala

580

<210> 156

<211> 567

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 156

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly
35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp
100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu
130 135 140

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu
145 150 155 160

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro
165 170 175

Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu
180 185 190

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr
195 200 205

Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

210 215 220

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn

225 230 235 240

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu

245 250 255

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

260 265 270

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

275 280 285

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

290 295 300

Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly

305 310 315 320

Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

325 330 335

Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp

340 345 350

Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

355 360 365

Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala

370 375 380

Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

385 390 395 400

Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala

405 410 415

Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly

420 425 430

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys

435 440 445

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu

450 455 460

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr

465 470 475 480

Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val

485 490 495

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys

500 505 510

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu

515 520 525

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly

530 535 540

Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

545 550 555 560

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

565

<210> 157

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 157

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
305 310 315 320

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu
325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys
340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro
385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu
405 410 415

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

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val
435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
450 455 460

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

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg
485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser

500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala

530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile

565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 158

<211> 599

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 158

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

450 455 460

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys

465 470 475 480

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu

485 490 495

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr

500 505 510

Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val

515 520 525

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys

530 535 540

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu

545 550 555 560

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly

565 570 575

Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

580 585 590

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595

<210> 159

<211> 597

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 159

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

305 310 315 320

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala
325 330 335

Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly
340 345 350

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu
355 360 365

Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
370 375 380

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His
385 390 395 400

Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
405 410 415

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

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
435 440 445

Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu
465 470 475 480

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys
485 490 495

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu
500 505 510

His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu
515 520 525

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro
530 535 540

Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

545 550 555 560

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr

565 570 575

Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

580 585 590

Leu Gln Lys Ala Ala

595

<210> 160

<211> 582

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 160

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp

130 135 140

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

145 150 155 160

Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg

165 170 175

Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu Glu

180 185 190

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp

195 200 205

Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu

210 215 220

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

225 230 235 240

Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His

245 250 255

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

260 265 270

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

275 280 285

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly

290 295 300

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp

305 310 315 320

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

325 330 335

Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly

340 345 350

Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val

355 360 365

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln

370 375 380

Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile

385 390 395 400

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys

405 410 415

Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

420 425 430

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

450 455 460

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu

465 470 475 480

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro

485 490 495

Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu

500 505 510

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr

515 520 525

Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

530 535 540

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys

545 550 555 560

Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

565 570 575

Val Leu Gln Lys Ala Ala

580

<210> 161

<211> 567

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 161

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

130 135 140

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu

145 150 155 160

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro

165 170 175

Leu His Leu Ala Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

180 185 190

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr

195 200 205

Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

210 215 220

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn

225 230 235 240

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu

245 250 255

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

260 265 270

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

275 280 285

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

290 295 300

Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly

305 310 315 320

Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

325 330 335

Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp

340 345 350

Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

355 360 365

Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala

370 375 380

Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

385 390 395 400

Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala

405 410 415

Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly

420 425 430

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys

435 440 445

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu

450 455 460

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr

465 470 475 480

Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val

485 490 495

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys

500 505 510

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu

515 520 525

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly

530 535 540

Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

545 550 555 560

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

565

<210> 162

<211> 601

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 162

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly
35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp
100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala
145 150 155 160

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

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala
180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu
210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His
245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
305 310 315 320

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu
325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys
340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu
355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro
385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu
405 410 415

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

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly

465 470 475 480

Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg

485 490 495

Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser

500 505 510

His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val

515 520 525

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala

530 535 540

Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile

545 550 555 560

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile

565 570 575

Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp

580 585 590

Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 163

<211> 599

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 163

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu

325 330 335

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys

340 345 350

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu

355 360 365

His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

370 375 380

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr Pro

385 390 395 400

Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

405 410 415

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr

420 425 430

Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

435 440 445

Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

450 455 460

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys

465 470 475 480

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu

485 490 495

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr

500 505 510

Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val

515 520 525

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys

530 535 540

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu

545 550 555 560

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly

565 570 575

Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

580 585 590

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595

<210> 164

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 164

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly
420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala
435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp
465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Glu Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 165

<211> 636

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 165

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly

420 425 430

Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val

435 440 445

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe

450 455 460

Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu

465 470 475 480

Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr

485 490 495

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser

500 505 510

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

515 520 525

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

545 550 555 560

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

565 570 575

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

580 585 590

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

595 600 605

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

610 615 620

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn

625 630 635

<210> 166

<211> 636

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 166

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe
275 280 285

Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly
420 425 430

Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val
435 440 445

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser
450 455 460

Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile
465 470 475 480

Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr
485 490 495

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser

500 505 510

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

515 520 525

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

545 550 555 560

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

565 570 575

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

580 585 590

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

595 600 605

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

610 615 620

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn

625 630 635

<210> 167

<211> 630

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 167

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asp

180 185 190

Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His Leu Ala

245 250 255

Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu

275 280 285

Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala

290 295 300

Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

305 310 315 320

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala

325 330 335

Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly

340 345 350

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu

355 360 365

Ala Ala His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

370 375 380

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His

385 390 395 400

Leu Ala Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

405 410 415

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu

420 425 430

His Leu Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu

435 440 445

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala

450 455 460

Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu

465 470 475 480

Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

485 490 495

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

500 505 510

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met

515 520 525

Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro

530 535 540

Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu

545 550 555 560

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr

565 570 575

Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

580 585 590

Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys

595 600 605

Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

610 615 620

Val Leu Gln Lys Leu Asn

625 630

<210> 168

<211> 630

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 168

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala His

180 185 190

Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ser

245 250 255

Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
260 265 270

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile
275 280 285

Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala
290 295 300

Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
305 310 315 320

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala
325 330 335

Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly
340 345 350

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu
355 360 365

Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
370 375 380

Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His
385 390 395 400

Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
405 410 415

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu
420 425 430

His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu
435 440 445

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro
450 455 460

Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu
465 470 475 480

Gln Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

485 490 495

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

500 505 510

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met

515 520 525

Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro

530 535 540

Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu

545 550 555 560

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr

565 570 575

Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

580 585 590

Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys

595 600 605

Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

610 615 620

Val Leu Gln Lys Leu Asn

625 630

<210> 169

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 169

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 170

<211> 597

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 170

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

165 170 175

Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro

180 185 190

Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp

195 200 205

Val Asn Ala Lys Asp Tyr Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala

210 215 220

Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala

225 230 235 240

Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala

245 250 255

Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

275 280 285

Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

290 295 300

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

305 310 315 320

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

325 330 335

Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

340 345 350

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

355 360 365

Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

370 375 380

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His

385 390 395 400

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

405 410 415

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

420 425 430

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

435 440 445

Lys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu

465 470 475 480

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys

485 490 495

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu

500 505 510

His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu

515 520 525

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro

530 535 540

Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

545 550 555 560

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr

565 570 575

Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val

580 585 590

Leu Gln Lys Ala Ala

595

<210> 171

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 171

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr

500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 172

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 172

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ala Val Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp

245 250 255

Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys

260 265 270

Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

275 280 285

Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu

290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu

305 310 315 320

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro
325 330 335

Leu His Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly
420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala
435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr
450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp
465 470 475 480

Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu
485 490 495

Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr
500 505 510

Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys
515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp
530 535 540

Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 173

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 173

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala
145 150 155 160

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

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala
180 185 190

Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu
210 215 220

Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His
245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser

500 505 510

Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 174

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 174

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His

245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys

260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala

275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln

290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr

305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys

325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly

420 425 430

Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala

435 440 445

Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Ile Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser

500 505 510

Thr Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Phe Gln Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Val Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 175

<211> 636

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 175

Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly
35 40 45

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Lys Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp
100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala
145 150 155 160

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

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala
180 185 190

Ala Asp Ala Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu
210 215 220

Ala Ala Ser Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Ala Gly Asn Thr Pro Leu His
245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly

420 425 430

Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val

435 440 445

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe

450 455 460

Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu

465 470 475 480

Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr

485 490 495

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser

500 505 510

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

515 520 525

Glu Val Arg Glu Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly His Leu

545 550 555 560

Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

565 570 575

Asp Phe Ala Gly Lys Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Asn Asp Gly His

580 585 590

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala

595 600 605

Gln Asp Ile Phe Gly Lys Thr Pro Ala Asp Ile Ala Ala Asp Ala Gly

610 615 620

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

625 630 635

<210> 176

<211> 570

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 176

Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln

1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala

20 25 30

Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly

35 40 45

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

50 55 60

Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser

65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val

85 90 95

Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp

100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser

115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr

130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Met Lys Leu Leu Glu Ala Ala

145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala

165 170 175

Asp Val Asn Ala His Asp Thr Trp Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala

180 185 190

Ala Phe His Gly His Gln Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Phe Tyr Gly Lys Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Leu Arg Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Gln Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp

245 250 255

Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys

260 265 270

Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

275 280 285

Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu

290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu

305 310 315 320

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Ser Thr Gly Trp Thr Pro

325 330 335

Leu His Leu Ala Ala Pro Trp Gly His Pro Glu Ile Val Glu Val Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Phe Gln Gly Trp Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Ala Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys

385 390 395 400

Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu

405 410 415

Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro

420 425 430

Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu

435 440 445

Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val

450 455 460

Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Arg

465 470 475 480

Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu Ile

485 490 495

Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn Glu

500 505 510

Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu Glu

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp

530 535 540

Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu

545 550 555 560

Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

565 570

<210> 177

<211> 636

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 177

Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly
35 40 45

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp
100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala
145 150 155 160

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

Asp Val Asn Ala Lys Asp Arg Tyr Gly Asp Thr Pro Leu His Leu Ala
180 185 190

Ala Asp Ile Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Glu Asp Tyr Phe Gly Asn Thr Pro Leu His Leu
210 215 220

Ala Ala Ser Tyr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Asn Thr Pro Leu His
245 250 255

Leu Ala Ala Asn Thr Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala
275 280 285

Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly
420 425 430

Trp Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val

435 440 445

Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe

450 455 460

Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu

465 470 475 480

Ala Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr

485 490 495

Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser

500 505 510

Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

515 520 525

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

530 535 540

Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys

565 570 575

Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His

580 585 590

Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala

595 600 605

Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly

610 615 620

His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

625 630 635

<210> 178

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 178

Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly
35 40 45

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp
100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Met Lys Leu Leu Glu Ala Ala
145 150 155 160

Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala
165 170 175

Asp Val Asn Ala His Asp Thr Trp Gly Leu Thr Pro Leu His Leu Ala
180 185 190

Ala Phe His Gly His Gln Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Gly

195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Phe Tyr Gly Lys Thr Pro Leu His Leu

210 215 220

Ala Ala Leu Arg Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Tyr

225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Gln Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp

245 250 255

Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys

260 265 270

Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro

275 280 285

Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu

290 295 300

Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Leu

305 310 315 320

Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro

325 330 335

Leu His Leu Ala Ala His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu

340 345 350

Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr

355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val

370 375 380

Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp

385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val Glu

405 410 415

Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly

420 425 430

Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala

435 440 445

Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu

500 505 510

Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn

530 535 540

Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 179

<211> 603

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein bao gồm bốn miền lặp lại ankyrin được thiết kế

<400> 179

Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln
1 5 10 15

Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala
20 25 30

Lys Asp Glu Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly
35 40 45

His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn
50 55 60

Ala Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser
65 70 75 80

Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val
85 90 95

Asn Ala Gln Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp
100 105 110

Ala Gly His Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr
130 135 140

Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala
145 150 155 160

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

Asp Val Asn Ala Lys Asp Tyr Leu Gly Trp Thr Pro Leu His Leu Ala
180 185 190

Ala His Glu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly
195 200 205

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Val Ser Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu
210 215 220

Ala Ala Ala Asp Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala
225 230 235 240

Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Asn Thr Gly Trp Thr Pro Leu His
245 250 255

Leu Ser Ala Asp Leu Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys
260 265 270

Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe
275 280 285

Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln
290 295 300

Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr
305 310 315 320

Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp Leu Gly Met Lys
325 330 335

Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu
340 345 350

Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala His Asp Thr Trp Gly Leu Thr
355 360 365

Pro Leu His Leu Ala Ala Phe His Gly His Gln Glu Ile Val Glu Val
370 375 380

Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Phe Tyr Gly Lys
385 390 395 400

Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Leu Arg Gly His Leu Glu Ile Val Glu
405 410 415

Val Leu Leu Lys Tyr Gly Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Gln Phe Gly
420 425 430

Lys Thr Ala Phe Asp Ile Ser Ile Asp Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala
435 440 445

Glu Ile Leu Gln Lys Ala Ala Gly Ser Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr

450 455 460

Pro Thr Pro Thr Pro Thr Thr Pro Thr Pro Thr Pro Thr Gly Ser Asp

465 470 475 480

Leu Asp Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu

485 490 495

Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu

500 505 510

Arg Gly Thr Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Val Tyr Gly His Leu Glu

515 520 525

Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asn

530 535 540

Glu Thr Gly Tyr Thr Pro Leu His Leu Ala Asp Ser Ser Gly His Leu

545 550 555 560

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys His Ser Ala Asp Val Asn Ala Gln

565 570 575

Asp Lys Ser Gly Lys Thr Pro Ala Asp Leu Ala Ala Asp Ala Gly His

580 585 590

Glu Asp Ile Ala Glu Val Leu Gln Lys Ala Ala

595 600

<210> 180

<211> 33

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô-đun ankyrin lặp lại của miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu gắn kết đối với albumin huyết thanh.

<400> 180

Lys Asp Tyr Phe Ser His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Asn Gly

1 5 10 15

His Leu Lys Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Ala Gly Ala Asp Val Asn

20 25 30

Ala

<210> 181

<211> 33

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô-đun ankyrin lặp lại của miền lặp lại ankyrin được thiết kế có tính đặc hiệu gắn kết đối với albumin huyết thanh.

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 1

<223> Xaa biểu thị gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm D, K và A

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 1..33

<223> tùy chọn lên tới 5, 4, 3, 2, 1, 0 axit amin ở các vị trí không phải vị trí được biểu thị bằng Xaa có thể hoán đổi bằng axit amin bất kỳ

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 5

<223> Xaa biểu thị gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm D, G và S

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 15

<223> Xaa biểu thị gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, N, D, H, S, A, Q, T và G

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 16

<223> Xaa biểu thị gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm G và D

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 19

<223> Xaa biểu thị gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm E, K và G

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> 27

<223> Xaa biểu thị gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm H, Y, A và N

<400> 181

Xaa Asp Tyr Phe Xaa His Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Arg Xaa Xaa

1 5 10 15

His Leu Xaa Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Xaa Gly Ala Asp Val Asn

20 25 30

Ala