(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) **1-0037307**

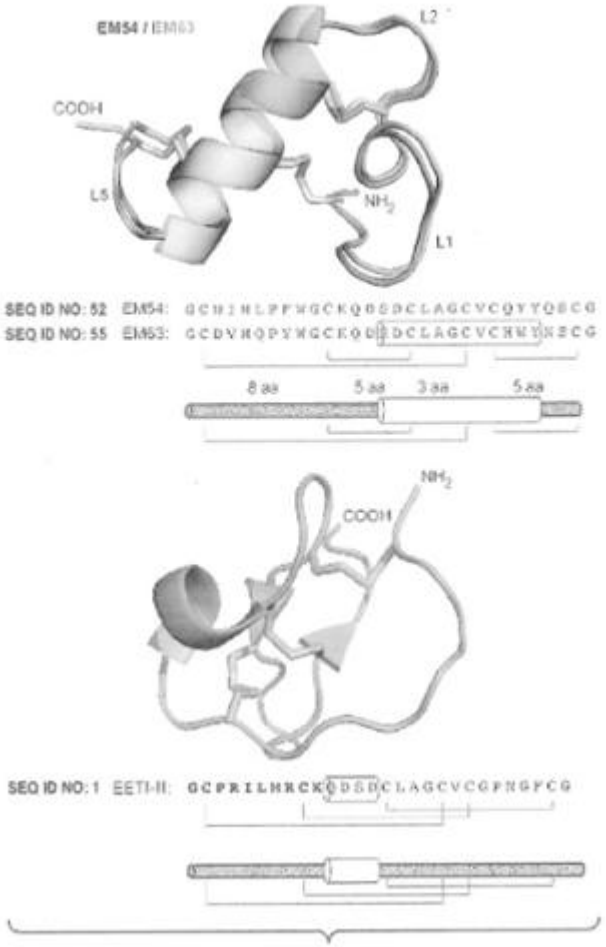
(51)[8] **C07K 14/81**; C07K 14/47; A61K 38/00; C07K 14/415

(13) **B**

(21) 1-2018-01404
(22) 15/09/2016
(86) PCT/US2016/052012 15/09/2016
(87) WO2017/049009 23/03/2017
(30) 62/219,063 15/09/2015 US
(45) 25/10/2023 427
(43) 25/09/2018 366A
(73) Genentech, Inc. (US)
1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080-4990, United States of America
(72) HANNOUSH, Rami (CA); KALUARACHCHI, Harini (CA); NILE, Aaron (US); NOLAND, Cameron (US); ZHANG, Yingnan (CN); ZHOU, Lijuan (US); GAO, Xinxin (US).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) PEPTIT GẮN KẾT VỚI YẾU TỐ TĂNG TRƯỞNG NỘI MẠC MẠCH MÁU A, PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA PEPTIT NÀY

(57) Sáng chế đề xuất xystin knot peptit không tồn tại tự nhiên (CKP) mà gắn kết với VEGF-A. Ngoài ra, sáng chế đề xuất phương pháp sử dụng CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A, bao gồm dược phẩm chẩn đoán và điều trị và phương pháp. Sáng chế cũng đề xuất CKP không tự nhiên mà gắn kết với protein 6 liên quan đến thụ thể lipoprotein (LRP6) mật độ thấp.


EM54 / EM53
L2
COOH
L5
NH2
L1
SEQ ID NO: 52 EM54: GCHIHLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQDCG
SEQ ID NO: 55 EM53: GCDVHQPYWGCEQDSDCLAGCVCHWYNDCG
8 aa
5 aa
3 aa
5 aa
NH2
COOH
SEQ ID NO: 1 EETI-II: GCPRILHRCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến xystin knot peptit (CKP) không tồn tại trong tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (vascular endothelial growth factor A - VEGF-A). Cụ thể là, sáng chế đề cập đến các peptit mà gắn kết với VEGF-A, dược phẩm chứa các peptit này, axit nucleic được phân lập mã hóa các peptit này, vectơ biểu hiện mã hóa phân tử axit nucleic này, và tế bào chứa vectơ biểu hiện này. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất peptit này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Mô hình và cấu tạo của protein mới từ các khung protein khác đã là lĩnh vực nổi bật trong thập kỉ trước với phổ ứng dụng rộng từ sinh học cấu trúc và công cụ tạo hình đến chất phản ứng điều trị bệnh mà hiện đang được thử nghiệm lâm sàng (HK Binz *et al.*, *Nat Biotechnol* 23, 1257-1268, 2005; HK Binz and A Pluckthun, *Curr Opin Biotechnol* 16, 459-469, 2005; SS Sidhu and S Koide, *Curr Opin Struct Biol* 17, 481-487, 2007; A Skerra, *Curr Opin Biotechnol* 18, 295-304, 2007; C Gronwall and S Stahl, *J Biotechnol* 140, 254-269, 2009; T Wurch *et al.*, *Trends Biotechnol* 30, 575-582, 2012; S Banta *et al.*, *Annu Rev Biomed Eng* 15, 93-113, 2013).

Các tính chất vật lý mong muốn của phân tử khung tiềm năng khác bao gồm tính ổn định nhiệt cao và tính thuận nghịch gấp nếp và không gấp do nhiệt. Một vài phương pháp đã được ứng dụng để làm tăng tính ổn định nhiệt biểu kiến của protein và enzym, bao gồm mô hình hợp lý dựa vào việc so sánh với các trình tự ổn định nhiệt cao tương tự, mô hình cầu disulfua ổn định, đột biến để làm tăng chuỗi xoắn α, cấu tạo cầu muối, biến đổi điện tích bề mặt của protein, sự tiến hóa có định hướng, và thành phần của trình tự liên ứng (Lehmann and Wyss, Cur Open Biotechnology 12, 371-375, 2001).

Xystin-knot peptit đến từ nhiều nguồn và biểu hiện các hoạt tính dược lý thay đổi. Chúng dài khoảng 30-50 axit amin và chứa sáu gốc xystein được bảo vệ tạo thành ba liên kết disulfua. Một trong các disulfua xâm nhập chu trình lớn do hai disulfua khác và khung chính liên kết của chúng tạo ra, nhờ đó tạo thành cấu trúc liên kết dạng knot đặc trưng với nhiều vòng được bộc lộ trên bề mặt. Các vòng này được xác định là các

vùng axit amin mà chứa sáu gốc xystein được bảo vệ và hay thay đổi trong tự nhiên. Ngoài ra, sự sắp xếp duy nhất của các liên kết disulfua làm cho xystin-knot peptit ổn định cao với nhiệt, sự thoái biến do protein phân giải và hóa học.

Do đó, có nhu cầu phát triển các phân tử giống kháng thể nhân tạo, ổn định, nhỏ để cho các ứng dụng điều trị bệnh và chẩn đoán, như bệnh và các rối loạn về mắt. Sáng chế đáp ứng nhu cầu này và các nhu cầu khác.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất xystin knot peptit (cystine knot peptide: CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (vascular endothelial growth factor A: VEGF-A), trong đó CKP chứa cấu trúc khung xystin:

$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2$

trong đó:

Z_1 và Z_2 là axit amin bất kỳ;

L1 là vòng 1 và có cấu trúc được chọn từ nhóm gồm: $X_1X_2X_3X_4X_5X_6$ (SEQ ID NO: 2), $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 3), $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4), $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$ (SEQ ID NO: 5), và $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$ (SEQ ID NO: 6), trong đó mỗi nhóm trong số X_1 - X_{10} là axit amin bất kỳ;

L2 là vòng 2 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3X_4X_5$ (SEQ ID NO: 7), trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên;

L3 là vòng 3 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3$, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_3 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên;

L4 là vòng 4 và có cấu trúc: X_1, trong đó X_1 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên;

L5 là vòng 5 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3X_4X_5$ (SEQ ID NO: 7), trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên;

trong đó axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin; và

trong đó CKP gắn kết với VEGF-A với ái lực là 500 pM hoặc tốt hơn.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A có liên kết cầu disulfua thay đổi có dựa vào protein EETI-II của chất ức chế trypsin *Ecballium elaterium* kiểu dại có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 1; trong đó liên kết cầu disulfua thay đổi là C1-C4, C2-C3 và C5-C6.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin,-L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, Z_1 và/hoặc Z_2 là nhiều hơn một axit amin, hoặc axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định, Z_2 là hai axit amin. Theo các phương án nhất định, Z_2 là ba axit amin.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, Z_1 và/hoặc Z_2 là G.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L1, X_3 không phải là I; X_5 không phải là M;

và/hoặc X_6 không phải là R. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L1: X_1 là axit amin được chọn từ P, Q, R, T, V, D, N, K, L, và X; X_2 là axit amin được chọn từ T, D, L, V, I, R, P, N và X; X_3 là axit amin được chọn từ T, P, M, L, S, F, R, và X; X_4 là axit amin được chọn từ R, T, Q, D, W, L, E, S, K, và X; X_5 là axit amin được chọn từ F, P, V, E, K, L, I, và X; X_6 là axit amin được chọn từ K, N, F, P, L, Y, T, D, M, và X; X_7 là axit amin được chọn từ Q, W, H và X; và/hoặc X_8 là axit amin được chọn từ Y, A, G, D, E, W, S, và X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L1: X_9 là axit amin được chọn từ L, I, V, D, E và X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L1: X_{10} là axit amin được chọn từ Y, T, M, N, F, và X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-

butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5, mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_2 không phải là prolin (P). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5, mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_4 không phải là glyxin (G). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5: X_1 là axit amin được chọn từ G, Q, H, R, L, và Q; X_2 là axit amin được chọn từ P, M, W, Y, F, L, và H; X_3 là axit amin được chọn từ N, F, H, và Y; X_4 là axit amin được chọn từ G, Q, D, N, K, H, E, và S; và/hoặc X_5 là axit amin được chọn từ F, S, và T.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, L1 có cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4), trong đó: X_1 là axit amin được chọn từ P, Q, và R; X_2 là axit amin được chọn từ T, L, và D; X_3 là axit amin được chọn từ T, M và L; X_4 là axit amin được chọn từ R, Q, và D; X_5 là axit amin được chọn từ F, P, và V; X_6 là axit amin được chọn từ K và F; X_7 là axit amin được chọn từ Q và W; và X_8 là axit amin được chọn từ Y, G, và D. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, L1 có cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ X_9 X_{10} (SEQ ID NO: 6), trong đó: X_1 là axit amin được chọn từ Q, R, T và V; X_2 là axit amin được chọn từ T và D; X_3 là P; X_4 là axit amin được chọn từ T và W; X_5 là axit amin được chọn từ F, E, P, và K; X_6 là axit amin được chọn từ N và P; X_7 là axit amin được chọn từ W và H; X_8 là axit amin được chọn từ A, D, E, và W; X_9 là axit amin được chọn từ L và I; và X_{10} là axit amin được chọn từ Y, T, M và N.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5: X_1 là axit amin được chọn từ G, H, và Q;

X_2 là axit amin được chọn từ P, M, W, và Y; X_3 là axit amin được chọn từ N và Y; X_4 là axit amin được chọn từ G, Q, và S; và X_5 là axit amin được chọn từ F và S.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, L1 có cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4), trong đó: X_1 là axit amin được chọn từ D, Q, N, và K; X_2 là axit amin được chọn từ V, I, R, L, và P; X_3 là axit amin được chọn từ L, S, M, T, và F; X_4 là axit amin được chọn từ Q, L, và E; X_5 là P; X_6 là axit amin được chọn từ F, L, và Y; X_7 là W; và X_8 là G.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5: X_3 là Y; X_5 là S; và X_1, X_2 và X_4 mỗi nhóm là axit amin bất kỳ, với ngoại lệ là X_1 không phải là G, X_2 không phải là P, X_4 không phải là G, và/hoặc X_5 không phải là F. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5: X_1 là axit amin được chọn từ H, L, R, và Q; X_2 là axit amin được chọn từ W, F, và Y; X_3 là Y; X_4 là axit amin được chọn từ Q, N, K, H, và E; và X_5 là S.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, L1 có cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ X_9 X_{10} (SEQ ID NO: 6), trong đó: X_1 là axit amin được chọn từ K, Q, L, và R; X_2 là axit amin được chọn từ N và D; X_3 là axit amin được chọn từ P và L; X_4 là axit amin được chọn từ L, T, S và K; X_5 là axit amin được chọn từ F, V, I, và L; X_6 là axit amin được chọn từ N và D; X_7 là W; X_8 là axit amin được chọn từ A và S; X_9 là axit amin được chọn từ L, V, E và D; và X_{10} là axit amin được chọn từ Y và F.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5: X1 là Q; X_2 là axit amin được chọn từ L, F, M, và H; X_3 là axit amin được chọn từ F, Y, và H; X_4 là axit amin được chọn từ D, Q, N, và K; và X_5 là axit amin được chọn từ S và T.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L2, X_1 là K, X_2 là Q, X_3 là D, X_4 là S, và X_5 là D.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, L1 có cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4), trong đó: X_5 là P; X_7 là W; X_8 là G; và trong đó X_1, X_2, X_3, X_4 và X_6 mỗi nhóm là

axit amin bất kỳ, với ngoại lệ là X1 không phải là P, X_2 không phải là R, X_3 không phải là I, và/hoặc X_6 không phải là R. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, L1 có cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4), trong đó: X_1 là axit amin được chọn từ N và D; X_2 là axit amin được chọn từ I và V; X_3 là axit amin được chọn từ M và L; X_4 là axit amin được chọn từ L, Q, D và K; X_5 là P; X_6 là axit amin được chọn từ F, Y, T, L, và M; X_7 là W; và X_8 là G.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5: X_1 là axit amin được chọn từ Q, H, L, và R; X_2 là axit amin được chọn từ Y và W; X_3 là Y; X_4 là axit amin được chọn từ Q và N; và X_5 là S. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5: X_3 là Y; X_5 là S; và X_1, X_2, và X_4 mỗi nhóm là axit amin bất kỳ, với ngoại lệ là: X_1 không phải là G, X_2 không phải là P, và/hoặc X_4 không phải là G.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L2: X_1 là axit amin được chọn từ G hoặc E; X_2 là axit amin được chọn từ Q, L, P, R, E, và M; X_3 là axit amin được chọn từ S, D, và N; X_4 là axit amin được chọn từ F, Y, L, M, và I; và/hoặc X_5 là axit amin được chọn từ E, D, Q, L, và S.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L3, X_1 là L, X_2 là A, và X_3 là G.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L4, X1 là V hoặc F.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5, mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_2 không phải là prolin (P).

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5, mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_4 không phải là glyxin (G).

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5: X_1 là axit amin bất kỳ trừ G; X_2 là axit

amin bất kỳ trừ P; X_3 là axit amin bất kỳ trừ N; X_4 là axit amin bất kỳ trừ G; và/hoặc X_5 là axit amin bất kỳ trừ F.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, L1 có cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ (SEQ ID NO: 4), trong đó X_1 là axit amin được chọn từ N, D, và X; X_2 là axit amin được chọn từ I, V, và X; X_3 là M hoặc X; X_4 là axit amin được chọn từ L, Q, và X; X_5 là P hoặc X; X_6 là F, Y, hoặc X; X_7 là W hoặc X; và X_8 là G hoặc X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L3, mỗi nhóm trong số X_1 – X_3 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên với ngoại lệ là X_1 không phải là Leuxin (L), X_2

không phải là Alanin (A), và X_3 không phải là glyxin (G), trong đó axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L3: X_1 là axit amin được chọn từ M, F, L V, và X; X_2 là axit amin được chọn từ S, N, Q, I, Y, E, V, T, và X; X_3 là axit amin được chọn từ D, Q, T, N, E, R, và X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L4, X_1 là axit amin bất kỳ trừ V hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L4, X_1 là I, L, hoặc X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5: X_3 là Y hoặc X; X_5 là S hoặc X; và X_1, X_2, và X_4 mỗi nhóm là axit amin bất kỳ hoặc X, với ngoại lệ là X_1 không phải là G, X_2 không phải là P, và/hoặc X_4 không phải là G, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5, mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_2 không phải là prolin (P). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5, mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_4 không phải là glyxin (G). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5: X_1 là axit amin được

chọn từ Q, H, và X; X_2 là axit amin được chọn từ Y, W, và X; X_3 là Y hoặc X; X_4 là axit amin được chọn từ Q, N, hoặc X; X_5 là S hoặc X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L2: X_1 là G hoặc X; X_2 là R, P, hoặc X; X_3 là D hoặc X; X_4 là F, I, hoặc X; và X_5 là E, D, hoặc X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, và L-4-flophenylalanin.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà

gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECLQQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 103). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECVERCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 104). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 105). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECMNQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 106). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECMQTCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 107). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECVYQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 108). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECFINCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 109). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 110). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng

trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECVTECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 111). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECFYECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 112). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 144), trong đó X là norleuxin (Nle). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn

tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145), trong đó X là norleuxin (Nle). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146), trong đó X là norleuxin (Nle).

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) gồm trình tự axit amin GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224), trong đó X là norleuxin.

Theo các phương án nhất định, được đề xuất là xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm: GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113), GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114), GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139), GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140), GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142), GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 144), trong đó X là norleuxin (Nle), GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145), trong đó X là norleuxin (Nle), GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146), trong đó X là norleuxin (Nle), và GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224), trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong

GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 144), trong đó X là norleuxin (Nle). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145), trong đó X là norleuxin (Nle). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146), trong đó X là norleuxin (Nle). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224), trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gắn kết với VEGF-A.

Theo các phương án nhất định, được đề xuất là xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm: GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-D/E-CLS-N/K/X$_2$-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 534), GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-N/K/X$_2$-CLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 535), GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-D/E-CME-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 538), GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-N/K/X$_2$-CME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 539), GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-D/E-CVS-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 540), và GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-N/K/X$_2$-CVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 541), trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit

amin được nêu trong GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-D/E-CLS-N/K/X$_2$-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 534), trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVXQPYWGCGPDIDCLSKCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 536), trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVX$_1$QPYWGCGPDIDCLSX$_2$CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 537), trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVX$_1$QPYWGCGPDI-N/K/X$_2$-CLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 535), trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-D/E-CME-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 538), trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIXLPYWGCGRDFECMEKCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 543), trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIX$_1$LPYWGCGRDFECMEX$_2$CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 544), trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIX$_1$LPYWGCGRDF-N/K/X$_2$-CME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 539), trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-D/E-CVS-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 540), trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIXLPFWGCGRDFECVSKCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 545), trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án

bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIX$_1$LPFWGCGRDFECVSX$_2$CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 546), trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-N/K/X$_2$-CVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 541), trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP gắn kết với VEGF-A.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, được đề xuất là xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A, trong đó CKP chứa cấu trúc khung xystin:

Z$_1$C$_1$L1C$_2$L2C$_3$L3C$_4$L4C$_5$L5C$_6$Z$_2$

trong đó:

Z$_1$ và Z$_2$ là axit amin bất kỳ;

L1 là vòng 1 và có cấu trúc được chọn từ nhóm gồm: X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$, X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$, và X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$X$_6$X$_7$X$_8$X$_9$X$_{10}$, trong đó mỗi nhóm trong số X$_1$ - X$_{10}$ là axit amin bất kỳ;

L2 là vòng 2 và có cấu trúc: X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$, trong đó mỗi nhóm trong số X$_1$ – X$_5$ là axit amin bất kỳ;

L3 là vòng 3 và có cấu trúc: X$_1$X$_2$X$_3$ trong đó mỗi nhóm trong số X$_1$ – X$_3$ là axit amin bất kỳ;

L4 là vòng 4 và có cấu trúc: X$_1$, trong đó X$_1$ là axit amin bất kỳ;

L5 là vòng 5 và có cấu trúc: X$_1$X$_2$X$_3$X$_4$X$_5$, trong đó mỗi nhóm trong số X$_1$ – X$_5$ là axit amin bất kỳ;

trong đó CKP có liên kết cầu disulfua thay đổi có dựa vào protein EETI-II của chất ức chế trypsin *Ecballium elaterium* kiểu dại có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 1; trong đó liên kết cầu disulfua thay đổi là C1-C4, C2-C3 và C5-C6; và trong đó CKP có tỷ lệ phần trăm chuỗi xoắn alpha ít nhất là 20%.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, Z$_1$ và Z$_2$ là axit amin bất kỳ, nhiều hơn một axit amin, hoặc axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, mỗi nhóm trong

số X_1 - X_{10} trong L1 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 trong L2 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, mỗi nhóm trong số X_1 – X_3 trong L3 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, X_1 trong L4 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 trong L5 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định, axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm: L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A gắn kết với VEGF-A với ái lực là 500 pM hoặc nhỏ hơn. Theo các phương án nhất

định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, ái lực liên kết được xác định bằng cộng hưởng plasmon bề mặt.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, Z_1 và/hoặc Z_2 là nhiều hơn một axit amin, hoặc axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định, Z_2 là hai axit amin. Theo các phương án nhất định, Z_2 là ba axit amin. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5, mỗi nhóm trong số $X_1 – X_5$ là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_2 không phải là prolin (P). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5, mỗi nhóm trong số $X_1 – X_5$ là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_4 không phải là glyxin (G).

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, nhóm amin đầu tận cùng N của (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A bị chặn và nhóm amin đầu tận cùng N của (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn).

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, nhóm amin đầu tận cùng N của (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa và nhóm amin đầu tận cùng N của (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-

A ức chế hoạt tính của VEGF-A. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP ức chế hoạt tính của VEGF-A với và IC_{50} nằm trong khoảng từ 0,5 nM đến 1,0 nM. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, protein khung EETI-II không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và VEGF-A chuột.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP không tồn tại tự nhiên cạnh tranh với kháng thể G6.31 để gắn kết với VEGF-A. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, được đề xuất là CKP không tồn tại tự nhiên cạnh tranh với (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A theo phương án bất kỳ nêu trên để gắn kết với VEGF-A.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với một epitop trên VEGF-A chứa ít nhất một trong số các gốc axit amin được chọn từ nhóm gồm: V14, V15, F17, D19, Y21, Q22, Y25, I46, K48, N62, D63, L66, M81, I83, K84, P85, H86, G88, Q89, I91, C104, R105, và P106.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc này được chọn từ nhóm gồm: K48, N62, và D63. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc này được chọn từ nhóm gồm: Y21, Y25, và P106. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc này được chọn từ nhóm gồm: H86 và Q89. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc này được chọn từ nhóm gồm: M81, D19, và Q22. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc này được chọn từ nhóm gồm: F17, M81, và I91. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc này được chọn từ nhóm gồm: V14, F17, D19, Q22, M81, và I91. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, gốc này được chọn từ nhóm gồm: Y25.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được liên hợp với tác nhân điều trị. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được liên hợp với chất đánh dấu. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, chất đánh dấu được chọn từ nhóm gồm đồng vị phóng xạ, thuốc nhuộm huỳnh quang, và enzym.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, được đề xuất là axit nucleic phân lập mã hóa (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A theo phương án bất kỳ nêu trên. Cũng được đề xuất là vectơ biểu hiện mã hóa phân tử axit nucleic theo phương án bất kỳ nêu trên. Cũng được đề xuất là tế bào chứa vectơ biểu hiện theo phương án bất kỳ nêu trên. Cũng được đề xuất là phương pháp sản xuất (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A theo phương án bất kỳ nêu trên, bao gồm nuôi cấy tế bào theo phương án bất kỳ nêu trên, và thu hồi (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A từ môi trường nuôi cấy tế bào.

Cũng được đề xuất là phương pháp sản xuất (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A theo phương án bất kỳ nêu trên, bao gồm tổng hợp hóa học (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A.

Được đề xuất ở đây là dược phẩm chứa (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A theo phương án bất kỳ nêu trên và chất mang dược dụng. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, chất phẩm này chứa một hoặc nhiều hợp chất khác. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hợp chất khác gắn kết với phân tử sinh học thứ hai được chọn từ nhóm gồm intơlơkin-6 (IL-6); thụ thể intơlơkin-6 (IL-6R); PDGF; angiopoietin; angiopoietin 2; Tie2; S1P; integrin αvβ3, αvβ5, và α5β1; betacellulin; apelin/APJ; erythropoietin; yếu tố bổ thể D; TNFα; HtrA1; thụ thể VEGF; thụ thể ST-2; và protein có liên quan về mặt di truyền với nguy cơ thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (age-related macular degeneration: AMD) như các thành phần quá trình bổ thể C2, yếu tố B, yếu tố H, CFHR3, C3b, C5, C5a, C3a, HtrA1, ARMS2, TIMP3, HLA, intơlơkin-8 (IL-8), CX3CR1, TLR3, TLR4,

CETP, LIPC, COL10A1, và TNFRSF10A. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hợp chất khác là CKP không tồn tại tự nhiên. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hợp chất khác là kháng thể hoặc đoạn gắn kết kháng nguyên của chúng.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh về mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch và/hoặc tính thấm mạch hoặc rò rỉ mạch ở đối tượng, bao gồm sử dụng lượng hữu hiệu của (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A theo phương án bất kỳ nêu trên cho đối tượng. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, phương pháp này còn gồm sử dụng một hoặc nhiều hợp chất khác. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được sử dụng đồng thời với (các) hợp chất khác. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được sử dụng trước hoặc sau (các) hợp chất khác. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hợp chất khác gắn kết với phân tử sinh học thứ hai được chọn từ nhóm gồm intơlơkin-6 (IL-6); thụ thể intơlơkin-6 (IL-6R); PDGF; angiopoietin; angiopoietin 2; Tie2; S1P; integrin αvβ3, αvβ5, và α5β1; betacellulin; apelin/APJ; erythropoietin; yếu tố bổ thể D; TNFα; HtrA1; thụ thể VEGF; thụ thể ST-2; và protein liên quan về mặt di truyền với nguy cơ thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD) như các thành phần quá trình bổ thể C2, yếu tố B, yếu tố H, CFHR3, C3b, C5, C5a, C3a, HtrA1, ARMS2, TIMP3, HLA, intơlơkin-8 (IL-8), CX3CR1, TLR3, TLR4, CETP, LIPC, COL10A1, và TNFRSF10A. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hợp chất khác là CKP không tồn tại tự nhiên. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hợp chất khác là kháng thể hoặc đoạn gắn kết kháng nguyên của chúng. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, bệnh về mắt là bệnh do tạo mạch mới trong mắt được chọn từ nhóm gồm bệnh võng mạc tăng sinh, tân mạch hắc mạc (choroidal neovascularization: CNV), thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD), bệnh võng mạc liên quan đến đái tháo đường

và chứng thiếu máu cục bộ khác, phù hoàng điểm do đái tháo đường, cận thị bệnh lý, bệnh von Hippel-Lindau, nhiễm nấm histoplasma ở mắt, tắc tĩnh mạch võng mạc (retinal vein occlusion: RVO), bao gồm tắc tĩnh mạch võng mạc trung tâm (Central Retinal Vein Occlusion: CRVO) và tắc tĩnh mạch võng mạc nhánh (branched retinal vein occlusion: BRVO), tân mạch giác mạc, tân mạch võng mạc, và bệnh võng mạc ở trẻ sinh non (retinopathy of prematurity: ROP).

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A hoặc dược phẩm được sử dụng cho đối tượng nhờ dụng cụ cấy được. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, dụng cụ cấy được được chọn từ nhóm gồm: thuốc gài đặt trong mắt, nền giải phóng chậm, nút/ổ chứa trong mắt, vật cấy mắt không thoái biến sinh học hoặc vật cấy mắt thoái biến sinh học.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, được đề xuất là dược phẩm chứa (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A theo phương án bất kỳ nêu trên dùng để điều trị bệnh về mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch và/hoặc tính thấm mạch hoặc rò rỉ mạch ở đối tượng. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, bệnh về mắt là bệnh do tạo mạch mới trong mắt được chọn từ nhóm gồm bệnh võng mạc tăng sinh, tân mạch hắc mạc (CNV), thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD), bệnh võng mạc liên quan đến đái tháo đường và chứng thiếu máu cục bộ khác, phù hoàng điểm do đái tháo đường, cận thị bệnh lý, bệnh von Hippel-Lindau, nhiễm nấm histoplasma ở mắt, tắc tĩnh mạch võng mạc (RVO), bao gồm tắc tĩnh mạch võng mạc trung tâm (CRVO) và tắc tĩnh mạch võng mạc nhánh (BRVO), tân mạch giác mạc, tân mạch võng mạc, và bệnh võng mạc ở trẻ sinh non (ROP). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, dược phẩm được sử dụng cho đối tượng nhờ dụng cụ cấy được. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, dụng cụ cấy được được chọn từ nhóm gồm: thuốc gài đặt trong mắt, nền giải phóng chậm, nút/ổ chứa trong mắt, vật cấy mắt không thoái biến sinh học hoặc vật cấy mắt thoái biến sinh học.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, được đề xuất là dược phẩm chứa (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A theo phương án bất kỳ nêu trên dùng để điều trị bệnh về mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch và/hoặc tính thấm mạch hoặc rò rỉ mạch ở đối tượng. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, bệnh về mắt là bệnh do tạo mạch mới trong mắt được chọn từ nhóm gồm bệnh võng mạc tăng sinh, tân mạch hắc mạc (CNV), thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD), bệnh võng mạc liên quan đến đái tháo đường và chứng thiếu máu cục bộ khác, phù hoàng điểm do đái tháo đường, cận thị bệnh lý, bệnh von Hippel-Lindau, nhiễm nấm histoplasma ở mắt, tắc tĩnh mạch võng mạc (RVO), bao gồm tắc tĩnh mạch võng mạc trung tâm (CRVO) và tắc tĩnh mạch võng mạc nhánh (BRVO), tân mạch giác mạc, tân mạch võng mạc, và bệnh võng mạc ở trẻ sinh non (ROP). Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, thuốc được sử dụng cho đối tượng nhờ dụng cụ cấy được. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, dụng cụ cấy được được chọn từ nhóm gồm: thuốc gài đặt trong mắt, nền giải phóng chậm, nút/ổ chứa trong mắt, vật cấy mắt không thoái biến sinh học hoặc vật cấy mắt thoái biến sinh học.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được bào chế để phân phối tác dụng lâu dài.

Sáng chế đề xuất chế phẩm chứa (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A theo phương án bất kỳ nêu trên và PLGA. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, PLGA là que PLGA.

Sáng chế còn đề xuất xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với protein 6 liên quan đến thụ thể lipoprotein (lipoprotein receptor-related protein 6: LRP6) mật độ thấp ở người, trong đó CKP chứa cấu trúc khung xystin:

$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2$;

trong đó:

Z_1 và Z_2 là axit amin bất kỳ;

L1 là vòng 1 và có cấu trúc được chọn từ nhóm gồm: $X_1X_2X_3X_4X_5X_6$, $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$, $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$, $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$, và $X1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 - X_{10} là axit amin bất kỳ;

L2 là vòng 2 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3X_4X_5$, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ;

L3 là vòng 3 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3$ trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_3 là axit amin bất kỳ;

L4 là vòng 4 và có cấu trúc: X_1, trong đó X_1 là axit amin bất kỳ; và

L5 là vòng 5 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3X_4X_5$, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, Z_1 và/hoặc Z_2 là nhiều hơn một axit amin, hoặc axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định, Z_2 là hai axit amin. Theo các phương án nhất định, Z_2 là ba axit amin.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, Z_1 và/hoặc Z_2 là G.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L1: X_1 là axit amin được chọn từ R, V, M, A, G, N, S, và E; X_2 là axit amin được chọn từ T, N, S, G, R, và A; X_3 là axit amin được chọn từ N, R, H, V, K, S, G, I, và Y; X_4 là axit amin được chọn từ R, V, N, I, K, S, và T; X_5 là axit amin được chọn từ V, R, K, I, T, S, L, và N; và X_6 là axit amin được chọn từ K, G, A, I, R, N, S, và V. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L1: X_7 là axit amin được chọn từ G, R, K, E, P, và T. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L1: X_8 là axit amin được chọn từ G, R, K, Q, A, và S. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L1: X_9 là axit amin được chọn từ R hoặc G. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L1: X_{10} là axit amin được chọn từ E, W, và G.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L5: X_1 là axit amin được chọn từ G, S, N, Y, A, và R; X_2 là axit amin được chọn từ P, G, S, V, E, R, F, và D; X_3 là axit amin được chọn từ N, G, S, E, P, K, H, và R; X_4 là axit amin được chọn từ G, R, H, S, Q, V, và D; và X_5 là axit amin được chọn từ F, D, N, R, G, Y, S, và T.

Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L2, X_1 là K, X_2 là Q, X_3 là D, X_4 là S, và X_5 là D. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L3, X_1 là L, X_2 là A, và X_3 là G. Theo các phương án nhất định theo (hoặc như được sử dụng cho) phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong L4, X_1 là V.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 thể hiện cấu trúc của xystin knot protein EETI-II.

FIG. 2A thể hiện kết quả của thử nghiệm được tiến hành để xác định xem EGF_CKP9.54.90 có phá vỡ sự tương tác giữa VEGF-A(8-109) và KDR; VEGF-A(8-109) và Flt-1; VEGF-A 165 và KDR; VEGF-B và Flt-1; VEGF-C và Flt-4; VEGF-D và Flt-4; và PIGF-2 và FLT-1 hay không.

FIG. 2B thể hiện kết quả của thử nghiệm được tiến hành để xác định xem EGF_CKP9.54.90 có phá vỡ sự tương tác giữa VEGF-A(8-109) và KDR; VEGF-A(8-109) và Flt-1; VEGF-A 165 và KDR; EGF và EGFR; PDGF và PDGFR; NGF và NGFR; và IGF và IGFR hay không.

FIG. 3 thể hiện kết quả của thử nghiệm được tiến hành để xác định xem VEGF_CKP9.54.90, VEGF_CKP9.54, và VEGF_CKP9.63.12 có ức chế hoạt tính của trypsin proteaza hay không.

FIG. 4 thể hiện kết quả của thử nghiệm được tiến hành để xác định xem VEGF_CKP9.54.90 và VEGF_CKP9.63.12 có đề kháng với sự tiêu hóa trypsin hay không.

FIG. 5 thể hiện cấu trúc của VEGF_CKP9.54.90, cấu trúc của EETI-II kiểu dại, và đề xuất sơ đồ so sánh mô hình liên kết cầu disulfua của biến thể CKP gắn kết với VEGF-với mô hình của EETI-II kiểu dại.

FIG. 6 thể hiện cấu trúc đồng tinh thể của VEGF_CKP9.54.90 trong phức chất với VEGF-A.

FIG. 7 thể hiện mô hình lấp đầy không gian mà thể hiện bề mặt chung gắn kết của VEGF_CKP9.54.90, kháng thể G6.31, và vùng 2 của Flt-2 trên VEGF-A.

FIG 8 thể hiện mô hình sơ đồ ruy băng mà thể hiện bề mặt chung gắn kết của VEGF_CKP9.54.90, kháng thể G6.31, và vùng 2 của Flt-2 trên VEGF-A.

FIG. 9 thể hiện các gốc tiếp xúc trên VEGF-A ở bề mặt tương tác giữa VEGF-A và VEGF_CKP9.54.90.

FIG. 10 thể hiện bề mặt chung gắn kết của bevacizumab Fab, vùng Z, và peptit v108 chặn thụ thể trên VEGF-A.

FIG. 11 thể hiện kết quả thử nghiệm được tiến hành để xác định hiệu quả của sự đột biến thay thế axit amin ở VEGF-A đối với sự gắn kết của VEGF_CKP9.54.90 với VEGF-A và đối với sự gắn kết của VEGF__CKP9.63.12 với VEGFA. Các kết quả của thử nghiệm được thể hiện dựa vào hai trục y khác nhau.

FIG. 12 thể hiện kết quả thử nghiệm được tiến hành để xác định hiệu quả của VEGF_CKP9.54.90 đối với CNV ở mắt chuột.

FIG. 13 thể hiện kết quả thử nghiệm được tiến hành để xác định giá trị IC_{50} của biến thể CKP gắn kết với VEGF.

FIG. 14 thể hiện cấu trúc của VEGF_CKP9.54 và VEGF_CKP9.63. Cũng được thể hiện trên FIG. 14 là một phần của cấu trúc đồng tinh thể của VEGF_CKP9.63 trong phức chất với VEGF-A mà thể hiện gốc ở vị trí 8 trong vòng 1 của VEGF_CKP9.63 có thể tạo thành liên kết hydro với mạch bên của Gln22 của VEGF-A.

FIG. 15 thể hiện kết quả của thử nghiệm ELISA cạnh tranh thể thực khuẩn mà được tiến hành để đánh giá ái lực gắn kết của các dòng vô tính 9.54-28, 9.54, 9.54.1-2, 9.54.1-36, 9.54.1-42, 9.54.1-63, 9.54.1-90, và 9.54.1 đối với hVEGF(8-109).

FIG. 16A thể hiện kết quả của thử nghiệm ELISA cạnh tranh thể thực khuẩn mà được tiến hành để đánh giá ái lực gắn kết của các dòng vô tính 9.63.44-1 đến 9.63.44-7.

FIG. 16B thể hiện kết quả của thử nghiệm ELISA cạnh tranh thể thực khuẩn mà được tiến hành để đánh giá ái lực gắn kết của các dòng vô tính 9.63.44-8 đến 9.63.44-14.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết đặc hiệu với VEGF-A người. CKP không tồn tại tự nhiên này có một hoặc nhiều đặc điểm sau: ức chế hoạt tính của VEGF-A với và IC_{50} nằm trong khoảng từ nhỏ hơn 0,5 nM đến nhỏ hơn 1,0 nM; gắn kết với VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và VEGF-A chuột; đề kháng với sự tiêu hóa trypsin; liên kết cầu disulfua của C1-C4, C2-C3, và C5-C6; tỷ lệ chuỗi xoắn alpha ít nhất là 15% đến 50%; gắn kết với một epitop trên VEGF-A mà khác với epitop được gắn kết bởi kháng thể G6.31, gắn kết với một epitop trên VEGF-A mà khác với epitop được gắn kết bởi bevacizumab, và/hoặc gắn kết với một epitop trên VEGF-A mà khác với epitop được gắn kết bởi Flt-1.

Sáng chế còn đề xuất các phân tử ghép và thể tiếp hợp chứa xystin knot peptit không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A, axit nucleic mã hóa CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A, và dược phẩm (như các dược phẩm). Sáng chế còn đề xuất phương pháp sử dụng CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A để điều trị các bệnh và/hoặc rối loạn về mắt (như bệnh và/hoặc rối loạn tăng sinh mạch ở mắt) do sự tạo mạch bất thường (như quá mức) và/hoặc tính thấm mạch bất thường. Sáng chế còn đề xuất việc sử dụng CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A để sản xuất thuốc để điều trị bệnh hoặc rối loạn ở mắt.

Theo một khía cạnh liên quan, sáng chế còn đề xuất CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết protein 6 liên quan đến thụ thể lipoprotein (LRP6) mật độ thấp ở người.

Thực hành sáng chế sử dụng, trừ khi có quy định khác, các phương pháp chuẩn và các kỹ thuật thông thường trong lĩnh vực sinh học tế bào, chất độc học, sinh học phân tử, hóa sinh, nuôi cấy tế bào, miễn dịch học, ung thư học, ADN tái tổ hợp và lĩnh vực liên quan đều nằm trong kiến thức trong lĩnh vực này. Các kỹ thuật này được mô tả trong tài liệu và nhờ đó có sẵn đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ, xem, Alberts, B. *et al.*, "Molecular Biology of the Cell," 5th edition, Garland Science, New York, NY, 2008; Voet, D. *et al.* "Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level," 3rd edition, John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, 2008; Sambrook, J. *et al.*, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual," 3rd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001; Ausubel, F. *et al.*, "Current Protocols in Molecular Biology," John Wiley & Sons, New York, 1987 and Periodic updates; Freshney, R.I., "Culture of

Animal Cells: A Manual of Basic Technique," 4th edition, John Wiley & Sons, Somerset, NJ, 2000; and the series "Methods in Enzymology," Academic Press, San Diego, CA.

Các định nghĩa

Như được sử dụng ở đây "không tồn tại tự nhiên" nghĩa là, ví dụ, polypeptit gồm trình tự axit amin không được thấy trong tự nhiên, hoặc, ví dụ, axit nucleic gồm trình tự nucleotit không được thấy trong tự nhiên. Thuật ngữ "xystin knot peptit không tồn tại tự nhiên" hoặc "CKP không tồn tại tự nhiên" (hoặc axit nucleic mã hóa thuật ngữ giống như vậy) được đề xuất ở đây không có trình tự axit amin của protein EETI-II kiểu dại, tức là, GCPRILMRCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 1), trong đó vòng 1 (L1) là trình tự axit amin PRILMR (SEQ ID NO: 92), vòng 2 (L2) là trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93), vòng 3 (L3) là trình tự axit amin LAG, vòng 4 (L4) là axit amin V, và vòng 5 (L5) là trình tự axit amin GPNGF (SEQ ID NO: 15). CKP không tồn tại tự nhiên được đề xuất ở đây có thể được tạo ra nhờ phương pháp kỹ thuật di truyền hoặc nhờ phương pháp tổng hợp hóa học. Do đó, CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây có thể là tái tổ hợp, tức là, được tạo ra nhờ tế bào, hoặc axit nucleic, hoặc vectơ, mà đã được cải biến bằng cách đưa axit nucleic khác loại vào hoặc biến đổi axit nucleic tự nhiên thành dạng không tự nhiên với tế bào đó, hoặc tế bào này thu được từ tế bào đã được cải biến. Theo cách khác, CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây có thể được tạo ra nhờ quá trình tổng hợp hóa học peptit.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "xystin-knot peptit" hoặc "CKP" dùng để chỉ peptit có độ dài từ 26 đến 50 axit amin, mà chứa sáu gốc xystein được bảo vệ để tạo thành ba liên kết disulfua. Một trong số các disulfua xâm nhập vào chu trình lớn mà được tạo thành bởi hai disulfua khác và khung chính liên kết của chúng, nhờ đó tạo thành cấu trúc liên kết dạng knot đặc trưng với nhiều vòng được bộc lộ trên bề mặt đặc trưng. Các vòng này được xác định là các vùng axit amin mà chứa sáu gốc xystein được bảo vệ và hay thay đổi trong tự nhiên.

Như được sử dụng ở đây, "sự thay đổi axit amin" dùng để chỉ sự bổ sung, loại bỏ, hoặc thay thế ít nhất một axit amin trong, ví dụ, trình tự peptit (như trong trình tự peptit WT EETI-II để tạo thành CKP không tồn tại tự nhiên, hoặc trong CKP không tồn tại tự nhiên để tạo thành CKP không tồn tại tự nhiên khác).

CKP không tồn tại tự nhiên "được phân lập" hoặc chế phẩm mà được nhận dạng và tách và/hoặc thu hồi từ thành phần của môi trường tự nhiên của nó. Thành phần nhiễm tạp của môi trường tự nhiên của nó là nguyên liệu mà có thể cản trở ứng dụng chẩn đoán hoặc điều trị đối với CKP không tồn tại tự nhiên, và có thể bao gồm enzym, hormon, và các chất tan có protein hoặc không có protein khác. Theo các phương án được ưu tiên, CKP không tồn tại tự nhiên hoặc chế phẩm sẽ được tinh chế (1) đến mức lớn hơn 95% trọng lượng CKP không tồn tại tự nhiên như xác định được bằng phương pháp Lowry, và tốt nhất là lớn hơn 99% trọng lượng, (2) đến mức đủ để thu được ít nhất 15 gốc trong trình tự axit amin đầu tận cùng N hoặc bên trong bằng cách sử dụng thiết bị giải trình tự dạng cốc quay tròn, hoặc (3) đến mức độ đồng nhất bởi SDS-PAGE trong điều kiện khử hoặc không khử sử dụng thuốc nhuộm màu xanh Coomassie hoặc, tốt hơn là, bạc. CKP không tồn tại tự nhiên đã phân lập bao gồm CKP tại chỗ trong các tế bào tái tổ hợp vì ít nhất một thành phần của môi trường tự nhiên của CKP sẽ không có mặt. CKP không tồn tại tự nhiên đã phân lập sẽ được điều chế bằng ít nhất một bước tinh chế.

"Phần trăm (%) mức độ đồng nhất trình tự axit amin" hoặc "sự tương đồng" về trình tự polypeptit được nhận dạng ở đây được xác định là phần trăm các gốc axit amin trong trình tự ứng cử viên mà đồng nhất với các gốc axit amin trong polypeptit đang được so sánh, sau khi sắp thẳng hàng các trình tự tính đến sự thay thế thận trọng bất kỳ ở dạng một phần tính đồng nhất trình tự. Sự sắp thẳng hàng nhằm mục đích xác định phần trăm tính đồng nhất trình tự axit amin có thể được thực hiện theo các cách khác nhau đều nằm trong kiến thức của lĩnh vực này, ví dụ, bằng cách sử dụng phần mềm máy tính có sẵn phổ biến như phần mềm BLAST, BLAST-2, ALIGN hoặc Megalign (DNASTAR). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể xác định các thông số thích hợp để xác định sự sắp thẳng hàng, bao gồm các thuật toán bất kỳ cần để đạt được sự sắp thẳng hàng tối đa theo toàn bộ chiều dài của trình tự đang được so sánh. Tuy nhiên, đối với mục đích ở đây, giá trị % tính đồng nhất trình tự axit amin được tạo ra bằng cách sử dụng chương trình máy tính so sánh trình tự ALIGN-2. Chương trình máy tính so sánh trình tự ALIGN-2 được tạo ra bởi Genentech, Inc. và mã nguồn đã được sắp xếp với dẫn chứng tư liệu của người dùng ở Cục bản quyền Mỹ, Washington D.C., 20559, nơi mà nó được đăng ký dưới số đăng ký bản quyền Mỹ TXU510087. Chương trình ALIGN-2 có sẵn phổ biến bởi Genentech, Inc., South San Francisco, California. Chương trình ALIGN-2 được biên soạn để sử dụng hệ thống vận hành UNIX,

tốt hơn là UNIX V4.0D số. Tất các thông số so sánh trình tự được thiết lập bởi chương trình ALIGN-2 và không thay đổi.

Như được sử dụng ở đây thuật ngữ "epitop" dùng để chỉ yếu tốt quyết định protein có khả năng được liên kết đặc hiệu bởi CKP không tồn tại tự nhiên được đề xuất ở đây. Một epitop có thể chứa từ 3-10 axit amin trong cấu hình không gian, là duy nhất đối với epitop. Các axit amin này có thể là thẳng với protein (tức là, liên tục trong trình tự axit amin) hoặc chúng có thể được định vị ở các phần khác nhau của protein (tức là, không liên tục trong trình tự axit amin). Các phương pháp xác định cấu hình không gian của axit amin trong protein, hoặc ở bề mặt chung của hai protein, là đã biết trong lĩnh vực này, và bao gồm, ví dụ, tinh thể học tia x và cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều.

Các thuật ngữ "kiểu liên kết disulfua (DBP)," "liên kết cầu disulfua," và "kiểu liên kết disulfua" dùng để chỉ kiểu liên kết của xystein so với protein WT EETI-II. Protein WT EETI-II chứa sáu gốc xystein được bảo vệ (được đánh số 1-6) tạo thành ba liên kết disulfua với các liên kết C1-C4, C2-C5, và C3-C6. Kiểu liên kết disulfua là không đổi về mặt cấu trúc liên kết, nghĩa là liên kết disulfua chỉ có thể bị thay đổi bởi sự không liên kết một hoặc nhiều disulfua như sử dụng điều kiện oxy hóa-khử.

Thuật ngữ "đối tượng," "bệnh nhân," hoặc "cá thể" đối với mục đích điều trị dùng để chỉ động vật bất kỳ được phân loại là động vật có vú, bao gồm người, vật nuôi trong nhà và động vật trang trại, và động vật ở vườn thú, thể thao, hoặc thú cưng, như chó, ngựa, mèo, bò, v.v.. Tốt hơn, nếu động vật có vú là người.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu" của CKP không tồn tại tự nhiên (hoặc dược phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) như được mô tả ở đây là lượng đủ để mang lại mục đích được nêu cụ thể. Thuật ngữ "lượng hữu hiệu" có thể được xác định theo kinh nghiệm và bằng các phương pháp đã biết liên quan đến mục đích được nêu.

Thuật ngữ "lượng có hiệu lực điều trị" dùng để chỉ lượng CKP không tồn tại tự nhiên hoặc chế phẩm như được mô tả ở đây, hữu hiệu để "điều trị" bệnh hoặc rối loạn ở động vật có vú (như người). Trong trường hợp bệnh về mắt hoặc rối loạn về mắt (như bệnh tăng sinh mạch máu ở mắt hoặc rối loạn về mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch quá mức), lượng có hiệu lực điều trị của CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây (hoặc dược phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A) dùng để chỉ lượng để làm giảm, chấm dứt hoặc ngăn ngừa ít nhất một triệu chứng của bệnh về mắt, như triệu chứng hoặc rối loạn của bệnh về mắt được mô tả

chi tiết hơn nữa ở đây. Ví dụ, lượng hữu hiệu sẽ được coi là lượng đủ để làm giảm hoặc ngăn ngừa triệu chứng của bệnh về mắt hoặc rối loạn về mắt (như bệnh tăng sinh mạch máu ở mắt hoặc rối loạn về mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch quá mức), ví dụ giải quyết và/hoặc khắc phục hoàn toàn hoặc một phần bệnh về mắt như được xác định bằng phương pháp chụp cắt lớp quang học (optical coherence tomography: OCT) hoặc làm tăng và/hoặc khắc phục về thị lực được hiệu chỉnh tốt nhất (như lớn hơn 5 chữ cái như được đánh giá bởi bảng thị lực EDTRS), hoặc làm giảm kích thước của tân mạch hoặc tính thấm mạch mới như được đánh giá bởi chụp mạch huỳnh quang đáy mắt. Lượng hữu hiệu như được sử dụng ở đây còn có thể bao gồm lượng đủ để ngăn ngừa hoặc làm chậm sự phát triển của, ví dụ, phù hoàng điểm, tính thấm tăng (như tính thấm mạch ở võng mạc), kích thước của thương tổn CNV, và giảm thị lực. Lượng hữu hiệu như được sử dụng ở đây có thể còn bao gồm lượng đủ để ngăn ngừa hoặc làm chậm sự phát triển triệu chứng của bệnh về mắt, thay đổi quá trình diễn biến của triệu chứng bệnh (ví dụ, nhưng không giới hạn ở, làm chậm sự tiến triển của triệu chứng bệnh về mắt), hoặc đảo ngược triệu chứng của bệnh.

Như được sử dụng ở đây, "việc điều trị" hoặc "điều trị" là cách tiếp cận để thu được lợi ích hoặc kết quả mong muốn bao gồm các kết quả lâm sàng. Đối với mục đích của sáng chế, lợi ích hoặc kết quả lâm sàng mong muốn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, một hoặc nhiều lợi ích hoặc kết quả lâm sàng sau: làm nhẹ bớt một hoặc nhiều triệu chứng do bệnh về mắt, giảm bớt mức độ của bệnh về mắt, làm ổn định bệnh về mắt (ví dụ, ngăn ngừa hoặc làm chậm sự xấu đi của bệnh), ngăn ngừa hoặc làm chậm sự lan tỏa của bệnh (như đến các mô mắt ngoại vi), ngăn ngừa hoặc làm chậm sự tái phát bệnh về mắt, làm chậm hoặc trì hoãn sự tiến triển của bệnh về mắt, cải thiện tình trạng bệnh, đem lại sự thuyên giảm hoặc giải quyết (một phần hoặc toàn bộ) bệnh về mắt, làm giảm liều của một hoặc nhiều thuốc khác cần để điều trị bệnh về mắt, làm chậm sự tiến triển của bệnh về mắt, làm tăng hoặc cải thiện chất lượng cuộc sống, và/hoặc ngăn ngừa hoặc làm chậm sự mất thị lực. Cũng được bao gồm bởi thuật ngữ "việc điều trị" là làm giảm kết quả bệnh lý của bệnh về mắt (như, ví dụ, giảm thị lực). Các phương pháp được đề xuất ở đây dự tính một hoặc nhiều trong số các khía cạnh điều trị này.

Thuật ngữ "rối loạn" là tình trạng bất kỳ mà có thể có lợi từ việc điều trị bằng CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây. Các ví dụ không giới hạn về các rối loạn liên quan đến VEGF-A được điều trị ở đây bao gồm bệnh và rối

loạn về mắt (như bệnh tăng sinh mạch máu ở mắt hoặc rối loạn về mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch quá mức), như được mô tả ở đây.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "dược dụng" hoặc "được chấp nhận về mặt dược lý" nghĩa là nguyên liệu không phải là không mong muốn về mặt sinh học hoặc mong muốn khác, ví dụ, nguyên liệu có thể được bổ sung vào dược phẩm được sử dụng cho bệnh nhân mà không gây ra tác dụng sinh học không mong muốn đáng kể bất kỳ hoặc tương tác theo cách có hại với bất kỳ thành phần khác có trong dược phẩm. Tốt hơn, nếu chất mang hoặc tá dược dược dụng đáp ứng các tiêu chuẩn yêu cầu về kiểm tra độc học và sản xuất và/hoặc được bao gồm trong Hướng dẫn thành phần không hoạt động (Inactive Ingredient Guide) được tạo ra bởi Cục quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ (U.S. Food and Drug administration).

Thuật ngữ "phát hiện" được dự định để bao gồm xác định sự có mặt hoặc vắng mặt của chất hoặc định lượng lượng chất (như phối tử đích). Do đó, thuật ngữ dùng để chỉ việc sử dụng nguyên liệu, dược phẩm, và phương pháp được đề xuất ở đây để xác định định tính và định lượng. Thông thường, kỹ thuật cụ thể được sử dụng để phát hiện không phải là tiêu chuẩn để thực hành sáng chế.

Ví dụ, "phát hiện" theo sáng chế có thể bao gồm: quan sát sự có mặt hoặc vắng mặt của phối tử đích (bao gồm, nhưng không giới hạn ở, polypeptit protein 6 liên quan đến thụ thể lipoprotein (LRP6) mật độ thấp ở người hoặc polypeptit yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) người); sự thay đổi về mức độ của phối tử đích; và/hoặc sự thay đổi về chức năng/hoạt tính sinh học của phối tử đích. Theo các phương án nhất định, "phát hiện" có thể bao gồm phát hiện mức độ của phối tử đích (ví dụ, mức polypeptit của LRP6 người hoặc VEGF-A người). Việc phát hiện có thể bao gồm định lượng sự thay đổi (tăng hoặc giảm) giá trị bất kỳ từ 10% đến 90%, hoặc giá trị bất kỳ từ 30% đến 60%, hoặc bằng 100%, khi so sánh với mẫu đối chứng. Việc phát hiện có thể bao gồm định lượng sự thay đổi giá trị bất kỳ từ 2 lần đến 10 lần, bao gồm, hoặc nhiều hơn, ví dụ, 100 lần.

Thuật ngữ "chất đánh dấu" khi được sử dụng ở đây dùng để chỉ hợp chất hoặc dược phẩm có thể phát hiện được mà được kết hợp trực tiếp hoặc gián tiếp với CKP không tồn tại tự nhiên. Chất đánh dấu có thể tự nó được phát hiện (ví dụ, chất đánh dấu đồng vị phóng xạ hoặc chất đánh dấu huỳnh quang) hoặc, trong trường hợp chất đánh

dấu enzym, có thể xúc tác sự thay đổi hóa học của hợp chất hoặc dược phẩm nền mà được phát hiện.

Về sự gắn kết của CKP không tồn tại tự nhiên với phối tử đích, thuật ngữ "gắn kết đặc hiệu" hoặc "gắn kết một cách đặc hiệu với" hoặc là "đặc hiệu đối với" phối tử đích cụ thể nghĩa là sự gắn kết khác biệt vừa phải với sự tương tác không đặc hiệu. Gắn kết đặc hiệu có thể được xác định, ví dụ, bằng cách xác định sự gắn kết của phân tử được so sánh với sự gắn kết của phân tử đối chứng, thường là phân tử có cấu trúc tương tự mà không có hoạt tính gắn kết. Ví dụ, gắn kết đặc hiệu có thể được xác định bằng sự cạnh tranh với phân tử đối chứng giống với đích, ví dụ, lượng dư đích không được đánh dấu. Trong trường hợp này, gắn kết đặc hiệu được chỉ ra nếu sự gắn kết của đích được đánh dấu với que thăm được ức chế cạnh tranh bởi lượng dư đích không được đánh dấu. Theo các phương án nhất định, mức độ gắn kết của CKP không tồn tại tự nhiên với phối tử "không phải đích" sẽ nhỏ hơn 10% sự gắn kết của CKP không tồn tại tự nhiên với phối tử đích của nó (như LRP6 hoặc VEGF-A) như được xác định bởi, ví dụ, phân tích phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (fluorescence activated cell sorting: FACS) hoặc kết tủa miễn dịch phóng xạ (radioimmunoprecipitation: RIA). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên theo sáng chế gắn kết đặc hiệu với phối tử đích (như protein 6 liên quan đến thụ thể lipoprotein (LRP6) mật độ thấp ở người hoặc yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) người) với hằng số phân ly (Kd) bằng hoặc thấp hơn 100 nM, tùy ý thấp hơn 10 nM, tùy ý thấp hơn 1 nM, tùy ý thấp hơn 0,5 nM, tùy ý thấp hơn 0,1 nM, tùy ý thấp hơn 0,01 nM, hoặc tùy ý thấp hơn 0,005 nM; được xác định ở nhiệt độ khoảng 4°C, 25°C, 37°C, hoặc 45°C.

Đề cập đến "khoảng" giá trị hoặc thông số ở đây dùng để chỉ khoảng sai số thông thường đối với giá trị tương ứng là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Đề cập đến "khoảng" giá trị hoặc thông số ở đây bao gồm (và mô tả) khía cạnh mà đề cập đến chính giá trị hoặc thông số đó. Ví dụ, mô tả đề cập đến "khoảng X" bao gồm mô tả về "X."

Cần phải hiểu rằng các khía cạnh và các phương án của sáng chế được mô tả ở đây bao gồm "chứa," "gồm," và "về cơ bản gồm" các khía cạnh và các phương án.

Tất cả các tài liệu được viện dẫn ở đây, bao gồm đơn sáng chế và công bố, đều được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Xystin knot peptit không tồn tại tự nhiên (CKP) gắn kết với Yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A) người

Theo các phương án nhất định, được đề xuất ở đây là xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A), trong đó CKP chứa cấu trúc khung xystin sau đây (tức là, cấu trúc khung I):

$Z_1C_1\mathbf{L1}C_2\mathbf{L2}C_3\mathbf{L3}C_4\mathbf{L4}C_5\mathbf{L5}C_6Z_2$ (I)

trong đó:

Z_1 và Z_2 là axit amin bất kỳ;

L1 là vòng 1 và có cấu trúc được chọn từ nhóm gồm: $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$, $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$, và $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 - X_{10} là axit amin bất kỳ;

L2 là vòng 2 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3X_4X_5$, trong đó mỗi nhóm trong số $X_1 - X_5$ là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, , t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit.

L3 là vòng 3 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3$ trong đó mỗi nhóm trong số $X_1 – X_3$ là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, , t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit;

L4 là vòng 4 và có cấu trúc: X_1, trong đó X_1 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, , t-butyl-L-glyxin

(còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit;

L5 là vòng 5 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3X_4X_5$, trong đó mỗi nhóm trong số $X_1 – X_5$ là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit; và

trong đó CKP gắn kết với VEGF-A với ái lực là 500 pM hoặc nhỏ hơn.

Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, cả đầu tận cùng C và N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A đều được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với

VEGF-A được amit hóa. Theo các phương án nhất định, amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa. Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa và amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa.

Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A có liên kết cầu disulfua thay đổi-có dựa vào protein EETI-II của chất ức chế trypsin *Ecballium elaterium* kiểu dại có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 1; trong đó liên kết cầu disulfua thay đổi là C1-C4, C2-C3 và C5-C6.

Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A là G. Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 gồm nhiều hơn một axit amin. Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 gồm 4 axit amin. Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 gồm 5 axit amin. Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 là axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định, axit amin không tự nhiên là N-axetylglyxin hoặc glyxin amit. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L1 trong đó X_3 không phải là I; trong đó X_5 không phải là M; và/hoặc trong đó X_6 không phải là R. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L1 trong đó X_1 là axit amin được chọn từ P, Q, R, T, V, D, N, K, L, và X; trong đó X_2 là axit amin được chọn từ T, D, L, V, I, R, P, N và X; trong đó X_3 là axit amin được chọn từ T, P, M, L, S, F, R, và X; trong đó X_4 là axit amin được chọn từ R, T, Q, D, W, L, E, S, K, và X; trong đó X_5 là axit amin được chọn từ F, P, V, E, K, L, I, và X; trong đó X_6 là axit amin được chọn từ K, N, F, P, L, Y, T, D, M, và X; trong đó X_7 là axit amin được chọn từ Q, W, H và X; và/hoặc trong đó X_8 là axit amin được chọn từ Y, A, G, D, E, W, S, và X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-

phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L1 trong đó X_9 là axit amin được chọn từ L, I, V, D, E và X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit. Theo các phương án nhất định, xystin

knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L1 trong đó X_{10} là axit amin được chọn từ Y, T, M, N, F, và X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit.

Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-

alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit; với ngoại lệ là X_2 không phải là prolin (P).

Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó mỗi nhóm trong số $X_1 – X_5$ là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit, với ngoại lệ là X_4 không phải là glyxin (G). Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó X_1 là axit amin được chọn từ G, Q, H, R, L, và Q; trong đó X_2 là axit amin được chọn từ P, M, W, Y, F, L, và H; trong đó X_3 là axit amin được chọn từ N, F, H, và Y; trong đó X_4 là axit amin được chọn từ G, Q, D, N, K,

H, E, và S; và/hoặc trong đó X_5 là axit amin được chọn từ F, S, và T. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L2 trong đó X_1 là K, X_2 là Q, X_3 là D, X_4 là S, và X_5 là D. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L3 trong đó X_1 là L, X_2 là A, và X_3 là G. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L4 trong đó X_1 là V hoặc F.

Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L1 chứa cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$, trong đó: X_1 là axit amin được chọn từ P, Q, và R; X_2 là axit amin được chọn từ T, L, và D; X_3 là axit amin được chọn từ T, M và L; X_4 là axit amin được chọn từ R, Q, và D; X_5 là axit amin được chọn từ F, P, và V; X_6 là axit amin được chọn từ K và F; X_7 là axit amin được chọn từ Q và W; và X_8 là axit amin được chọn từ Y, G, và D. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L1 chứa cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ X_9 X_{10}, trong đó X_1 là axit amin được chọn từ Q, R, T và V; X_2 là axit amin được chọn từ T và D; X_3 là P; X_4 là axit amin được chọn từ T và W; X_5 là axit amin được chọn từ F, E, P, và K; X_6 là axit amin được chọn từ N và P; X_7 là axit amin được chọn từ W và H; X_8 là axit amin được chọn từ A, D, E, và W; X_9 là axit amin được chọn từ L và I; và X_{10} là axit amin được chọn từ Y, T, M và N. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó X_1 là axit amin được chọn từ G, H, và Q; X_2 là axit amin được chọn từ P, M, W, và Y; X_3 là axit amin được chọn từ N và Y; X_4 là axit amin được chọn từ G, Q, và S; và X_5 là axit amin được chọn từ F và S. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L2 trong đó X_1 là K, X_2 là Q, X_3 là D, X_4 là S, và X_5 là D. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L3 trong đó X_1 là L, X_2 là A, và X_3 là G. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L4 trong đó X_1 là V hoặc F.

Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L1 có cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$, trong đó: X_1 là axit amin được chọn từ D, Q, N, và K; X_2 là axit amin được chọn từ V, I, R, L, và P; X_3 là axit amin được chọn từ L, S, M, T, và F; X_4 là axit amin được chọn từ Q, L, và E; X_5 là

P; X_6 là axit amin được chọn từ F, L, và Y; X_7 là W; và X_8 là G. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó X_3 là Y; X_5 là S; và trong đó X_1, X_2 và X_4 mỗi nhóm là axit amin bất kỳ, với ngoại lệ là X_1 không phải là G, X_2 không phải là P, X_4 không phải là G, và/hoặc X_5 không phải là F. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó X_1 là axit amin được chọn từ H, L, R, và Q; X_2 là axit amin được chọn từ W, F, và Y; X_3 là Y; X_4 là axit amin được chọn từ Q, N, K, H, và E; và X_5 là S. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L2 trong đó X_1 là K, X_2 là Q, X_3 là D, X_4 là S, và X_5 là D. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L3 trong đó X_1 là L, X_2 là A, và X_3 là G. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L4 trong đó X_1 là V hoặc F.

Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L1 chứa cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$ X_9 X_{10}, trong đó X_1 là axit amin được chọn từ K, Q, L, và R; X_2 là axit amin được chọn từ N và D; X_3 là axit amin được chọn từ P và L; X_4 là axit amin được chọn từ L, T, S và K; X_5 là axit amin được chọn từ F, V, I, và L; X_6 là axit amin được chọn từ N và D; X_7 là W; X_8 là axit amin được chọn từ A và S; X_9 là axit amin được chọn từ L, V, E và D; và X_{10} là axit amin được chọn từ Y và F. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó X_1 là Q; X_2 là axit amin được chọn từ L, F, M, và H; X_3 là axit amin được chọn từ F, Y, và H; X_4 là axit amin được chọn từ D, Q, N, và K; và X_5 là axit amin được chọn từ S và T. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L2 trong đó X_1 là K, X_2 là Q, X_3 là D, X_4 là S, và X_5 là D. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L3 trong đó X_1 là L, X_2 là A, và X_3 là G. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L4 trong đó X_1 là V hoặc F.

Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L1 chứa cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$, trong đó: X_5 là P; X_7 là W; X_8 là G; và trong đó X_1, X_2, X_3, X_4 và X_6 mỗi nhóm là axit amin bất kỳ, với

ngoại lệ là X_1 không phải là P, X_2 không phải là R, X_3 không phải là I, và/hoặc X_6 không phải là R. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L1 chứa cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$, trong đó X_1 là axit amin được chọn từ N và D; X_2 là axit amin được chọn từ I và V; X_3 là axit amin được chọn từ M và L; X_4 là axit amin được chọn từ L, Q, D và K; X_5 là P; X_6 là axit amin được chọn từ F, Y, T, L, và M; X_7 là W; và X_8 là G. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó X_1 là axit amin được chọn từ Q, H, L, và R; X_2 là axit amin được chọn từ Y và W; X_3 là Y; X_4 là axit amin được chọn từ Q và N; và X_5 là S. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó X_3 là Y; X_5 là S; và trong đó X_1, X_2, và X_4 mỗi nhóm là axit amin bất kỳ, với ngoại lệ là X_1 không phải là G, X_2 không phải là P, và/hoặc X_4 không phải là G. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L2 trong đó X_1 là axit amin được chọn từ G hoặc E; X_2 là axit amin được chọn từ Q, L, P, R, E, và M; X_3 là axit amin được chọn từ S, D, và N; X_4 là axit amin được chọn từ F, Y, L, M, và I; và/hoặc X_5 là axit amin được chọn từ E, D, Q, L, và S. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L3 trong đó X_1 là L, X_2 là A, và X_3 là G. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L4 trong đó X_1 là V hoặc F.

Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5, trong đó mỗi nhóm trong số $X_1 – X_5$ là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_2 không phải là prolin (P). Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5, trong đó mỗi nhóm trong số $X_1 – X_5$ là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_4 không phải là glyxin (G). Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5, trong đó X_1 là axit amin bất kỳ trừ G; X_2 là axit amin bất kỳ trừ P; X_3 là axit amin bất kỳ trừ N; X_4 là axit amin bất kỳ trừ G; và/hoặc X_5 là axit amin bất kỳ trừ F.

Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L1 chứa cấu trúc $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$, trong đó X_1 là axit amin được chọn từ N, D, và X; X_2 là axit amin được chọn từ I, V, và X; X_3 là M

hoặc X; X_4 là axit amin được chọn từ L, Q, và X; X_5 là P hoặc X; X_6 là F, Y, hoặc X; X_7 là W hoặc X; và X_8 là G hoặc X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L3 trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_3 là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin,

xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit, với ngoại lệ là X_1 không phải là Leuxin (L), X_2 không phải là Alanin (A), và X_3 không phải là glyxin (G), trong đó axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L3 trong đó X_1 là axit amin được chọn từ M, F, L V, và X; X_2 là axit amin được chọn từ S, N, Q, I, Y, E, V, T, và X; và X_3 là axit amin được chọn từ D, Q, T, N, E, R, và X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-

phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L4 trong đó X_1 là axit amin bất kỳ trừ V, hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit. Theo các phương án nhất định, xystin

knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L4 trong đó X_1 là I, L, hoặc X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó X_3 là Y hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-

alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit; X_5 là S hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit; và trong đó X_1, X_2, và X_4 mỗi nhóm là axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-

alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit, với ngoại lệ là X_1 không phải là G, X_2 không phải là P, và/hoặc X_4 không phải là G. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_2 không phải là prolin (P). Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_4 không phải là glyxin (G). Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó X_1 là axit amin được chọn từ Q, H, và X; X_2 là axit amin được chọn từ Y, W, và X; X_3 là Y hoặc X; X_4 là axit amin được chọn từ Q, N, hoặc X; X_5 là S hoặc X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-

metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit. Theo các phương án nhất định, xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A chứa L2 trong đó X_1 là G hoặc X; X_2 là R, P, hoặc X; X_3 là D hoặc X; X_4 là F, I, hoặc X; và X_5 là E, D, hoặc X, trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm gồm L-propargylglyxin-PEG_6-, L-sulfotyrosin, L-norleuxin, L-1-naphtylalanin, L-2-naphtylalanin, L-2-clotryptophan, L-3-flotyrosin, L-4-flophenylalanin, gama-benzyl-L-prolin, gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin, 4-OH-L-prolin, 4-flo-L-prolin, 4-[4-(triflometyl)-benzyl]-L-prolin, 3,4-diflo-L-phenylalanin, 3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin, 3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin, pyridon(NH meta)-L-alanin, 3-(1-N-metyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-etyl indol)-L-alanin, 3-(1-N-isopropyl indol)-L-alanin, 3-(5-aza-indol)-L-alanin, 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, L-4,4'-biphenylalanin, 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin, 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin, t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentyl glyxin), 3-xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, 5,5,5-Triflo-L-leuxin, t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), L-xyclopentylglyxin, L-xyclobutylglyxin, 3,4-hydroxy-L-phenylalanin, 3,4-flo-L-phenylalanin, 3-flo,4-OH-L-phenylalanin, 2-clo-L-tyrosin, 2-metyl-L-tyrosin, 2-etyl-L-tyrosin, 4-(naphtalen-1-ol)-L-alanin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, và glyxin morpholin amit.

Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, cả đầu tận cùng C và N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A đều được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa. Theo các phương án nhất định, amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa. Theo

các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa và amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa.

Cũng được đề xuất ở đây là xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A, trong đó CKP chứa cấu trúc khung xystin được đề xuất dưới đây (tức là, cấu trúc khung I):

$$Z_1C_1\mathbf{L1}C_2\mathbf{L2}C_3\mathbf{L3}C_4\mathbf{L4}C_5\mathbf{L5}C_6Z_2 \text{ (I)}$$

trong đó:

Z_1 và Z_2 là axit amin bất kỳ;

L1 là vòng 1 và có cấu trúc được chọn từ nhóm gồm: $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$, $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$, và $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 - X_{10} là axit amin bất kỳ;

L2 là vòng 2 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3X_4X_5$, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ;

L3 là vòng 3 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3$ trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_3 là axit amin bất kỳ;

L4 là vòng 4 và có cấu trúc: X_1, trong đó X_1 là axit amin bất kỳ;

L5 là vòng 5 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3X_4X_5$, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ; trong đó,

CKP có liên kết cầu disulfua thay đổi có dựa vào protein EETI-II của chất ức chế trypsin *Ecballium elaterium* kiểu dại có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 1; trong đó liên kết cầu disulfua thay đổi là C1-C4, C2-C3 và C5-C6; và trong đó CKP có tỷ lệ phần trăm chuỗi xoắn alpha ít nhất khoảng 15%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 35%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 45%, hoặc ít nhất khoảng 50%, bao gồm khoảng bất kỳ nằm giữa các giá trị này.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A với ái lực là 500 pM hoặc nhỏ hơn.

Theo các phương án nhất định, ái lực gắn kết của CKP không tồn tại tự nhiên với VEGF-A được xác định bằng, ví dụ, cộng hưởng plasmon bề mặt hoặc các thử nghiệm khác được nêu trong các ví dụ dưới đây.

Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A là G. Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 gồm nhiều hơn một axit amin. Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 gồm 4 axit amin. Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 gồm 5 axit amin. Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 là axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định, axit amin không tự nhiên là N-axetylglyxin hoặc glyxin amit.

Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, cả đầu tận cùng C và N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A đều được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa. Theo các phương án nhất định, amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa. Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa và amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L5 trong đó mỗi nhóm trong số $X_1 – X_5$ là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_2 không phải là prolin (P). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L5, mỗi nhóm trong số $X_1 – X_5$ là axit amin bất kỳ với ngoại lệ là X_4 không phải là glyxin (G). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A ức chế hoạt tính của VEGF-A với và IC_{50} khoảng 0,5 nM đến 1,0 nM. Theo các phương án nhất định, mức độ ức chế được xác định bằng thử nghiệm IC_{50} tế bào, như được mô tả chi tiết hơn trong các ví dụ dưới đây.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin HMMYDY (SEQ ID NO: 231) hoặc K/P/Q/R-K/T/L/D-

W/T/M/L-Q/R/D-W/F/P/V-W/K/F-Y/Q/W-M/Y/G/D (SEQ ID NO: 115) hoặc E/G/P/Q/R/T/V-T/E/A/D-D/T/I/P-W/V/Q/T/W-Y/F/N/E/P/K-P/E/W/N/P-H/Q/K/W/H-Q/F/E/A/D/W-I/L/H-D/W/P/Y/T/M/N (SEQ ID NO: 232), có dựa vào cấu trúc khung I nêu trên. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L4 chứa V hoặc F. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L5 gồm trình tự axit amin G/E/Y/Q/H-P/M/W/Y-N/Y/W-G/D/T/Q/R/S-F/A/E/S (SEQ ID NO: 20) hoặc SWWPSL (SEQ ID NO: 237).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 8-14 và 225-230, có dựa vào cấu trúc khung I nêu trên. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L4 chứa V hoặc F. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO 15-18 và 233-238). Trình tự axit amin của SEQ ID NO 8-18, 225-230, và 233-238 được nêu trong **Bảng 1** dưới đây.

Bảng 1

ETDWYPHQID (SEQ ID NO: 225)	GPNGF (SEQ ID NO: 233)
GETVFEQFLW (SEQ ID NO: 226)	GPNGF (SEQ ID NO: 234)
HMMYDY (SEQ ID NO: 227)	EMYDA (SEQ ID NO: 235)
KKWQWWYM (SEQ ID NO: 228)	YPWTE (SEQ ID NO: 236)
PAIQNWKEHP (SEQ ID NO: 229)	SWWPSL (SEQ ID NO: 237)
PTTRFKQY (SEQ ID NO: 8)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)

QDPTFNWALY (SEQ ID NO: 9)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)
QLMHPFWG (SEQ ID NO: 230)	HWYRS (SEQ ID NO: 238)
QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)
RDLDVKWD (SEQ ID NO: 11)	QYYSS (SEQ ID NO: 18)
RTPWEPHDIT (SEQ ID NO: 12)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
TTPWPPHEIM (SEQ ID NO: 13)	
VTPWKPHWIN (SEQ ID NO: 14)	

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin bất kỳ trong số SEQ ID NO: 21-17 và 239-244. Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 21-17 và 239-244 được nêu trong **Bảng 2** dưới đây.

Bảng 2

G**C**ETDWYPHQID**C**KQDSD**C**LAG**C**V**C**GPNGF**C**G (SEQ ID NO: 239)
G**C**GETVFEQFLW**C**KQDSD**C**LAG**C**V**C**GPNGF**C**G (SEQ ID NO: 240)
G**C**HMMYDY**C**KQDSD**C**LAG**C**V**C**EMYDA**C**G (SEQ ID NO: 241)
G**C**KKWQWWYM**C**KQDSD**C**LAG**C**V**C**YPWTE**C**G (SEQ ID NO: 242)
G**C**PAIQNWKEHP**C**KQDSD**C**LAG**C**V**C**SWWPSL**C**G (SEQ ID NO: 243)
G**C**PTTRFKQY**C**KQDSD**C**LAG**C**V**C**GPNGF**C**G (SEQ ID NO: 21)
G**C**QDPTFNWALY**C**KQDSD**C**LAG**C**V**C**QMYQS**C**G (SEQ ID NO: 22)

GCQLMHPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYRSCG (SEQ ID NO: 244)
GCQLMQPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 23)
GCRDLDVKWDCKQDSDCLAGCFCQYYSSCG (SEQ ID NO: 24)
GCRTPWEPHDITCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 25)
GCTTPWPPHEIMCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 26)
GCVTPWKPHWINCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 27)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin Q/H/E/N/D-L/V/R/P/I-M/F/L-Q/E/R/L-P-F/A/L/S-W-G (SEQ ID NO: 358), có dựa vào cấu trúc khung I nêu trên. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin HWYQS (SEQ ID NO: 17).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO 33, 36, và 245-253, có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5

gồm trình tự axit amin HWYQS (SEQ ID NO: 17). Trình tự axit amin của SEQ ID NO 33, 36, và 245-253 được nêu trong Bảng 3 dưới đây:

Bảng 3

HLFEPLWG (SEQ ID NO: 245)
QVMRPFWG (SEQ ID NO: 246)
QVMQPAWG (SEQ ID NO: 247)
HRLQPLWG (SEQ ID NO: 248)
ELLQPSWG (SEQ ID NO: 249)
NPMLPFWG (SEQ ID NO: 368)
NVLLPLWG (SEQ ID NO: 250)
DIMQPLWG (SEQ ID NO: 36)
DLMQPLWG (SEQ ID NO: 251)
NPMLPLWG (SEQ ID NO: 252)
QVLQPSWG (SEQ ID NO: 253)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin bất kỳ trong số SEQ ID NO: 265-275. Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 265-275 được nêu trong **Bảng 4** dưới đây.

Bảng 4

GCHLFEPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 265)
GCQVMRPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 266)
GCQVMQPAWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 267)

GCHRLQPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 268)
GCELLQPSWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 269)
GCNPMLPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 270)
GCNVLLPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 271)
GCDIMQPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 272)
GCDLMQPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 273)
GCNPMLPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 58)
GCQVLQPSWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 275)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L1 gồm trình tự axit amin QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L5 gồm trình tự axit amin R/H-W-Y-N/Q/H-S (SEQ ID NO: 359).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L1 gồm trình tự axit amin QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10), có dựa vào cấu trúc khung I nêu trên. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo

các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L5 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm HWYQS (SEQ ID NO: 17), RWYHS (SEQ ID NO: 43), và RWYNS (SEQ ID NO: 133).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 23, 276, và 278. SEQ ID NO 23, 276, và 278 được nêu trong Bảng 5 dưới đây.

Bảng 5

GCQLMQPFWGCKQDSDCLAGCVCRWYNSCG (SEQ ID NO: 276)
GCQLMQPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 23)
GCQLMQPFWGCKQDSDCLAGCVCRWYHSCG (SEQ ID NO: 278)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin Q/D/K/N/A/R/H-L/V/I/R/P/V/-M/L/S/T/F-Q/E/L/H-P-F/L/M/Y/S-W-G (SEQ ID NO: 40), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin H/L/R/Q/-W/F/Y-Y-Q/N/K/H/D/E-S (SEQ ID NO: 360).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 28-39 và 254-261, có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự

nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 17, 41-46, 133, 262-264, và 567. Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 17, 28-39, 41-46, 133, 254-264, và 567 được nêu trong **Bảng 6** dưới đây:

Bảng 6

DVLQPFWG (SEQ ID NO: 28)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)
QISQPFWG (SEQ ID NO: 29)	HFYNS (SEQ ID NO: 41)
DRMQPLWG (SEQ ID NO: 30)	LWYKS (SEQ ID NO: 42)
QLLEPMWG (SEQ ID NO: 254)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)
KLLQPMWG (SEQ ID NO: 255)	QWYKS (SEQ ID NO: 262)
DRMQPYWG (SEQ ID NO: 256)	RWYHS (SEQ ID NO: 43)
NLMLPFWG (SEQ ID NO: 31)	RWYQS (SEQ ID NO: 44)
QRTQPFWG (SEQ ID NO: 32)	LWYDS (SEQ ID NO: 263)
KIMQPLWG (SEQ ID NO: 257)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
NLMHPFWG (SEQ ID NO: 258)	RWYNS (SEQ ID NO: 133)
NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	QWYQS (SEQ ID NO: 264)
DPMQPFWG (SEQ ID NO: 34)	NPMLPLWG (SEQ ID NO: 38)
DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	KLFEPLWG (SEQ ID NO: 39)
DIMQPLWG (SEQ ID NO: 36)	RWYES (SEQ ID NO: 567)
ALLQPLWG (SEQ ID NO: 259)	
QLLQPLWG (SEQ ID NO: 37)	

RLLEPSWG (SEQ ID NO: 260)
HLLLPLWG (SEQ ID NO: 261)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 47-59 và 279-286. Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 47-59 và 279-286 được nêu trong **Bảng 7** dưới đây.

Bảng 7

GCDVLQPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 47)
GCQISQPFWGCKQDSDCLAGCVCHFYNSCG (SEQ ID NO: 48)
GCDRMQPLWGCKQDSDCLAGCVCLWYKSCG (SEQ ID NO: 49)
GCQLLEPMWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 279)
GCKLLQPMWGCKQDSDCLAGCVCRWYQSCG (SEQ ID NO: 280)
GCDRMQPYWGCKQDSDCLAGCVCQWYKSCG (SEQ ID NO: 281)
GCNLMLPFWGCKQDSDCLAGCVCRWYHSCG (SEQ ID NO: 50)
GCQRTQPFWGCKQDSDCLAGCVCRWYQSCG (SEQ ID NO: 51)
GCKIMQPLWGCKQDSDCLAGCVCLWYDSCG (SEQ ID NO: 282)
GCNLMHPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 283)

GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 52)
GCNPMLPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 53)
GCDPMQPFWGCKQDSDCLAGCVCRWYQSCG (SEQ ID NO: 54)
GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 55)
GCDIMQPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 56)
GCALLQPLWGCKQDSDCLAGCVCRWYNSCG (SEQ ID NO: 284)
GCQLLQPLWGCKQDSDCLAGCVCRWYQSCG (SEQ ID NO: 57)
GCRLLEPSWGCKQDSDCLAGCVCQWYQSCG (SEQ ID NO: 285)
GCHLLLPLWGCKQDSDCLAGCVCRWYHSCG (SEQ ID NO: 286)
GCNPMLPLWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG (SEQ ID NO: 58)
GCKLFEPLWGCKQDSDCLAGCVCRWYESCG (SEQ ID NO: 59)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin Q/D/K/W/E/L/R-D/N-P/R/L/T-T/S/L/K-F/V/L/I-N/D-W-A/S/G-L/V/E/T/Q/D-F/Y(SEQ ID NO: 70), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin Q/R-M/L/F/H-Y/F/H-D/Q/N/K-S/T (SEQ ID NO: 80).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 60-69 và 287-291. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 16, 71-79, 274, và 292. Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 16, 60-69, 71-79, 274, và 287-292 được nêu trong Bảng 8 dưới đây.

Bảng 8

DDPSFDWSVY (SEQ ID NO: 287)	RMYDS (SEQ ID NO: 292)
KNPLFNWALY (SEQ ID NO: 60)	QLFDS (SEQ ID NO: 71)
QDPTVNWAVY (SEQ ID NO: 61)	QFYQS (SEQ ID NO: 72)
QDPTFNWAEY (SEQ ID NO: 62)	QLYQS (SEQ ID NO: 73)
WDPTFNWALY (SEQ ID NO: 288)	QMYDS (SEQ ID NO: 76)
QDPTLNWATY (SEQ ID NO: 289)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)
EDPTVDWAQY (SEQ ID NO: 290)	QMHQS (SEQ ID NO: 74)
QDPSLNWADY (SEQ ID NO: 63)	QMYNS (SEQ ID NO: 75)
LDRTLNWALY (SEQ ID NO: 64)	QLYQS (SEQ ID NO: 73)
LDPSFNWSLY (SEQ ID NO: 65)	QHYKT (SEQ ID NO: 77)
RDLTINWALF (SEQ ID NO: 66)	QLFNS (SEQ ID NO: 78)
KDTTFNWGLF (SEQ ID NO: 291)	QLYNS (SEQ ID NO: 79)

LDPTVNWALF (SEQ ID NO: 67)	QMFNS (SEQ ID NO: 274)
QDPKLNWAVY (SEQ ID NO: 68)	
LDPSFDWALY (SEQ ID NO: 69)	

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 81-91 và 293-297. Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 81-91 và 293-297 được nêu trong **Bảng 9** dưới đây.

Bảng 9

GCDDPSFDWSVYCKQDSDCLAGCVCRMYDSCG (SEQ ID NO: 293)
GCKNPLFNWALYCKQDSDCLAGCVCQLFDSCG (SEQ ID NO: 81)
GCQDPTVNWAVYCKQDSDCLAGCVCQFYQSCG (SEQ ID NO: 82)
GCQDPTFNWAEYCKQDSDCLAGCVCQLYQSCG (SEQ ID NO: 83)
GCWDPTFNWALYCKQDSDCLAGCVCQMYDSCG (SEQ ID NO: 294)
GCQDPTFNWAEYCKQDSDCLAGCVCQMYQSCG (SEQ ID NO: 84)
GCQDPSLNWADYCKQDSDCLAGCVCQMHQSCG (SEQ ID NO: 85)
GCQDPTLNWATYCKQDSDCLAGCVCQMYQSCG (SEQ ID NO: 295)
GCEDPTVDWAQYCKQDSDCLAGCVCQMYQSCG (SEQ ID NO: 296)

GCLDRTLNWALYCKQDSDCLAGCVCQMYNSCG (SEQ ID NO: 86)
GCLDPSFNWSLYCKQDSDCLAGCVCQMYDSCG (SEQ ID NO: 87)
GCRDLTINWALFCKQDSDCLAGCVCQMFNSCG (SEQ ID NO: 88)
GCKDTTFNWGLFCKQDSDCLAGCVCQLYQSCG (SEQ ID NO: 297)
GCLDPTVNWALFCKQDSDCLAGCVCQHYKTCG (SEQ ID NO: 89)
GCQDPKLNWAVYCKQDSDCLAGCVCQLFNSCG (SEQ ID NO: 90)
GCLDPSFDWALYCKQDSDCLAGCVCQLYNSCG (SEQ ID NO: 91)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin K/G/Q/S/N-Q/L/P/A/V/T/R/W/K/G/Y-D/S/E/N-S/F/Y/L/F/Q/M-D/E/N/A/L/F/H/Q (SEQ ID NO: 98). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin QYYQS (SEQ ID NO: 45).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 94-97 và 298-309. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-

A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin QYYQS (SEQ ID NO: 45). Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 94-97 và 298-309 được nêu trong **Bảng 10** dưới đây.

Bảng 10

GQSFE (SEQ ID NO: 94)	GWDQF (SEQ ID NO: 304)
GLDYD (SEQ ID NO: 95)	GKDFH (SEQ ID NO: 305)
GPELN (SEQ ID NO: 298)	GPDLQ (SEQ ID NO: 96)
QADYA (SEQ ID NO: 299)	SGDFA (SEQ ID NO: 306)
GVDYL (SEQ ID NO: 300)	GKELN (SEQ ID NO: 307)
GTNFL (SEQ ID NO: 301)	GWSMD (SEQ ID NO: 308)
SRDFD (SEQ ID NO: 302)	GYDLQ (SEQ ID NO: 309)
NRDFL (SEQ ID NO: 303)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 99-102 và 310-321. Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 99-102 và 310-321 được nêu trong **Bảng 11** dưới đây.

Bảng 11

GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 99)
GCNIMLPFWGCGLDYDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 100)
GCNIMLPFWGCGPELNCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 310)

GCNIMLPFWGCQADYACLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 311)
GCNIMLPFWGCGVDYLCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 312)
GCNIMLPFWGCGTNFLCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 313)
GCNIMLPFWGCSRDFDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 314)
GCNIMLPFWGCNRDFLCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 315)
GCNIMLPFWGCGWDQFCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 316)
GCNIMLPFWGCGKDFHCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 317)
GCNIMLPFWGCGPDLQCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 101)
GCNIMLPFWGCSGDFACLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 318)
GCNIMLPFWGCGKELNCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 319)
GCNIMLPFWGCGWSMDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 320)
GCNIMLPFWGCGYDLQCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 321)
GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin N-I-M/L-L/S/T/Q/N/E/D-P-F/Y/S-WG (SEQ ID NO: 454), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin GRDFE (SEQ ID NO: 97). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin L/V/M/F-A/Q/E/S/N/Y/I/T-G/Q/R/D/T/N/E. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V hoặc I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin QYYQS (SEQ ID NO: 45).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33), NILLPFWG (SEQ ID NO: 396), NILLPYWG (SEQ ID NO: 397), NIMSPFWG (SEQ ID NO: 398), NIMTPFWG (SEQ ID NO: 399), NIMQPFWG (SEQ ID NO: 400), NIMNPFWG (SEQ ID NO: 401), NIMEPFWG (SEQ ID NO: 402), NIMDPFWG (SEQ ID NO: 403), NIMLPSWG (SEQ ID NO: 414), và NIMLPYWG (SEQ ID NO: 141) có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33), có dựa vào cấu trúc khung V hoặc I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin GRDFE (SEQ ID NO: 97). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm: LQQ, VER, MSD, MNQ, MQT, VYQ, FIN, VSQ, VTE, FYE, MEQ, và VYR. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin QYYQS (SEQ ID NO: 45).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 103-114. Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 103-114 được nêu trong **Bảng 12** dưới đây.

Bảng 12

GCNIMLPFWGCGRDFECLQQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 103)
GCNIMLPFWGCGRDFECVERCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 104)
GCNIMLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 105)
GCNIMLPFWGCGRDFECMNQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 106)
GCNIMLPFWGCGRDFECMQTCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 107)
GCNIMLPFWGCGRDFECVYQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 108)
GCNIMLPFWGCGRDFECFINCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 109)
GCNIMLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 110)
GCNIMLPFWGCGRDFECVTECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 111)
GCNIMLPFWGCGRDFECFYECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 112)
GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113)
GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114)
G**C**DVLQPYWG**C**GPDID**C**LSN**C**I**C**HWYNS**C**G (SEQ ID NO: 386)

GCNILLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 405)
GCNILLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 406)
GCNIMSPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 407)
GCNIMTPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 408)
GCNIMQPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 409)
GCNIMNPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 410)
GCNIMEPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 411)
GCNIMDPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 412)
GCNIMLPSWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 415)
GCNIMLPFWGCGRDFECLSGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 421)
GCNIMLPFWGCGRDFECLTGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 422)
GCNIMLPFWGCGRDFECLEGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 423)
GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCLCQYYQSCG (SEQ ID NO: 424)
GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 425)

GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCS (SEQ ID NO: 431)
GCNILLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 435)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin K/G/D/A/E-Q/E/R/V/P/D/M/G/N/L/A/F-D/N/Y/S-S/F/L/I/M/Y/V/N/E-D/L/Q/S/E/T/L/A/N (SEQ ID NO: 121). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin HWYNS (SEQ ID NO: 46).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 117-120, 211, và 322-339. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin HWYNS (SEQ ID NO: 46). Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 117-120, 211, và 322-339 được nêu trong **Bảng 13** dưới đây.

Bảng 13

GENFL (SEQ ID NO: 117)	DGDFD (SEQ ID NO: 331)
GRDLQ (SEQ ID NO: 322)	AGDFE (SEQ ID NO: 332)
GVDLS (SEQ ID NO: 323)	EMDFD (SEQ ID NO: 120)

GPDID (SEQ ID NO: 118)	GNSFE (SEQ ID NO: 333)
GDDLE (SEQ ID NO: 324)	GQDLT (SEQ ID NO: 334)
GVDMT (SEQ ID NO: 325)	GENLA (SEQ ID NO: 335)
GMDIE (SEQ ID NO: 326)	GQDYN (SEQ ID NO: 336)
DGDYQ (SEQ ID NO: 327)	GADLS (SEQ ID NO: 337)
GNDVS (SEQ ID NO: 328)	GFDMD (SEQ ID NO: 338)
GRDMD (SEQ ID NO: 119)	GESLS (SEQ ID NO: 211)
AGDEL (SEQ ID NO: 329)	DLNYE (SEQ ID NO: 339)
GLDEE (SEQ ID NO: 330)	

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 122-126 và 340-357. Trình tự axit amin của SEQ ID NO: SEQ ID NO: 122-126 và 340-357 được nêu trong **Bảng 14** dưới đây.

Bảng 14

GCDVMQPYWGCGENFLCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 122)
GCDVMQPYWGCGRDLQCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 340)
GCDVMQPYWGCGVDLSCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 341)
GCDVMQPYWGCGPDIDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 123)
GCDVMQPYWGCGDDLECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 342)

GCDVMQPYWGCGVDMTCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 343)
GCDVMQPYWGCGMDIECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 344)
GCDVMQPYWGCDGDYQCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 345)
GCDVMQPYWGCGNDVSCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 346)
GCDVMQPYWGCGRDMDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 124)
GCDVMQPYWGCAGDELCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 347)
GCDVMQPYWGCGLDEECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 348)
GCDVMQPYWGCDGDFDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 349)
GCDVMQPYWGCAGDFECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 350)
GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 125)
GCDVMQPYWGCGNSFECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 351)
GCDVMQPYWGCGQDLTCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 352)
GCDVMQPYWGCGENLACLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 353)
GCDVMQPYWGCGQDYNCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 354)

GCDVMQPYWGCGADLSCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 355)
GCDVMQPYWGCGFDMDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 356)
GCDVMQPYWGCGESLSCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 126)
GCDVMQPYWGCDLNYECLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 357)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin D-V-M/L-Q/K/D-P-Y/M/T/L-W-G (SEQ ID NO: 130), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin

KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin H/L/Q/R-W-Y-N-S (SEQ ID NO: 134).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin được chọn từ SEQ ID NO: 127-129, có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 131-133. Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 127-129 và 131-133 được nêu trong **Bảng 15** dưới đây:

Bảng 15

DVMKPMWG (SEQ ID NO: 127)	QWYNS (SEQ ID NO: 131)
DVLDPTWG (SEQ ID NO: 128)	LWYNS (SEQ ID NO: 132)
DVLQPLWG (SEQ ID NO: 129)	RWYNS (SEQ ID NO: 133)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 135-137. Trình tự axit amin của SEQ ID NO: 135-127 được nêu trong **Bảng 16** dưới đây:

Bảng 16

GCDVMKPMWGCKQDSDCLAGCVCQWYNSCG (SEQ ID NO: 135)
GCDVLDPTWGCKQDSDCLAGCVCLWYNSCG (SEQ ID NO: 136)
GCDVLQPLWGCKQDSDCLAGCVCRWYNSCG (SEQ ID NO: 137)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin GPDID (SEQ ID NO: 118). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin L/F-A/V/S-G/R/N. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm axit amin được chọn từ V, I, và L. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin HWYNS (SEQ ID NO: 46).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-

A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin GPDID (SEQ ID NO: 118). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin FVR và LSN. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm axit amin được chọn từ V, I, và L. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin HWYNS (SEQ ID NO: 46).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1, L2, L3, L4 và/hoặc L5 của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A bất kỳ được mô tả ở đây. Do đó, theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A chứa L1 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 8-14, 28-39, 60-69, 127-129, 141, 225-230, 245-261, 287-291, 396-403, và 414 có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L2 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 93-97, 117-120, 211, 298-309, và 322-339. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L3 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm LAG, LQQ, VER, MSD, MNQ, MQT, VYQ, FIN, VSQ, VTE, FYE, MEQ, và VYR, FVR và LSN. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V, F, I, hoặc L. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A còn chứa L5 gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm SEQ ID NO: 15-18, 41-46, 71-79, 131-133, 233-238, 262-264, và 292. Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, cả đầu tận cùng C và N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A đều được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không

tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa. Theo các phương án nhất định, amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa. Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa và amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa.

Theo các phương án nhất định, ít nhất một axit amin được loại bỏ khỏi CKP gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây. Theo các phương án nhất định, ít nhất một axit amin được loại bỏ khỏi đầu tận cùng N. Theo các phương án nhất định, ít nhất một axit amin được loại bỏ khỏi đầu tận cùng C. Theo các phương án nhất định, ít nhất một axit amin được loại bỏ khỏi đầu tận cùng N và đầu tận cùng C. Theo các phương án nhất định, ít nhất một internal axit amin được loại bỏ. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin CNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSC (SEQ ID NO: 217). Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, cả đầu tận cùng C và N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A đều được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa. Theo các phương án nhất định, amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa. Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa và amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm ít nhất một sự bổ sung axit amin. Theo các phương án nhất định, ít nhất một axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N. Theo các phương án nhất định, ít nhất một axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng C. Theo các phương án nhất định, ít nhất một axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N và đầu tận cùng C.

Theo các phương án nhất định, hai axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây. Theo các phương án nhất định, hai axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102). Theo các phương án nhất định, hai axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 102 là F/I/G/T/V/L-H/A/S/R. Theo các phương án nhất định, hai axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 102 được chọn từ nhóm gồm: FH, IA, GS, TR, VH, và LS. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGFH (SEQ ID NO: 379). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGIA (SEQ ID NO: 380). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGGS (SEQ ID NO: 381). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGTR (SEQ ID NO: 382). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGVH (SEQ ID NO: 383). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGLS (SEQ ID NO: 384).

Theo các phương án nhất định, hai axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được nêu trong GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 386). Theo các phương án nhất định, hai axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 102 là R/W/P/D/Q/E/S-T/K/E/F/Q/L/S. Theo các phương án nhất định, hai axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 102 được chọn từ nhóm gồm: RT, WK, PL, DE, QF, EQ, PT, RL, và SL. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong

GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGRT (SEQ ID NO: 387). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGWK (SEQ ID NO: 388). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGPL (SEQ ID NO: 389). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGDE (SEQ ID NO: 390). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGQF (SEQ ID NO: 391). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGEQ (SEQ ID NO: 392). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGPT (SEQ ID NO: 393). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGRL (SEQ ID NO: 394). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGSL (SEQ ID NO: 395).

Theo các phương án nhất định, ba axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây. Theo các phương án nhất định, hai axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102). Theo các phương án nhất định, ba axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 102 là P/N/T/D/E/Y/W-L/Y/F/H/D/P-I/Q/V/K/S/Y/H. Theo các phương án nhất định, ba axit amin được bổ sung vào đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 102 được chọn từ nhóm gồm: PLI, NYQ, PLQ, TFQ, DLV, EHK, YLS, WDY, WPH, và PHQ. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPLI (SEQ ID NO:

369). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGNYQ (SEQ ID NO: 370). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPLQ (SEQ ID NO: 371). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGTFQ (SEQ ID NO: 372). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGDLV (SEQ ID NO: 373). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGEHK (SEQ ID NO: 374). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGYLS (SEQ ID NO: 375). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGWDY (SEQ ID NO: 376). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGWPH (SEQ ID NO: 377). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin được nêu trong GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPHQ (SEQ ID NO: 378).

Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, cả đầu tận cùng C và N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A đều được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa. Theo các phương án nhất định, amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa. Theo

các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa và amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A là biến thể của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây. Theo các phương án nhất định, biến thể này chứa ít nhất 1, ít nhất 2, ít nhất 3, ít nhất 4, ít nhất 5, ít nhất 6, ít nhất 7, ít nhất 8, ít nhất 9, hoặc ít nhất 10 sự thay thế axit amin trong một hoặc nhiều trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 8-14, 28-39, 60-69, 127-129, 141, 225-230, 245-261, 287-291, 396-403, và 414; SEQ ID NO: 93-97, 117-120, 211, 298-309, và 322-339; trình tự axit amin LAG, LQQ, VER, MSD, MNQ, MQT, VYQ, FIN, VSQ, VTE, FYE, MEQ, và VYR, FVR và LSN; và/hoặc 15-18, 41-46, 71-79, 131-133, 233-238, 262-264, và 292. Theo các phương án nhất định, (các) thay thế axit amin là (các) thay thế axit amin bảo toàn. Theo các phương án nhất định, sự thay thế axit amin không làm giảm đáng kể khả năng của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A để gắn kết với VEGF-A người. Ví dụ, sự thay đổi bảo toàn (ví dụ, sự thay thế bảo toàn như được đề xuất ở đây) không làm giảm đáng kể ái lực gắn kết của VEGF-A có thể được tạo ra. Ái lực gắn kết của biến thể của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A có thể được đánh giá bằng cách sử dụng phương pháp được mô tả trong các ví dụ dưới đây.

Sự thay thế bảo toàn được nêu trong **Bảng 17** dưới đây dưới tiêu đề "sự thay thế bảo toàn." Sự thay đổi đáng kể hơn được nêu trong **Bảng 17** dưới tiêu đề "sự thay thế ví dụ," và như được mô tả thêm dưới đây có dựa vào các nhóm mạch bên của axit amin. Sự thay thế axit amin có thể được đưa vào biến thể của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A và sản phẩm được sàng lọc đối với hoạt tính mong muốn, ví dụ, sự gắn kết với VEGF-A vẫn còn/cải thiện.

Bảng 17: Sự thay thế bảo toàn

Gốc ban đầu	**Sự thay thế ví dụ**	**Sự thay thế được ưu tiên**
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val

Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleuxin	Leu
Leu (L)	Norleuxin; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleuxin	Leu

Sự thay thế không bảo toàn sẽ dẫn đến sự trao đổi thành viên của một trong các nhóm này với nhóm khác.

Biến thể thay thế làm ví dụ là CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được làm thuần thục ái lực, mà có thể được tạo ra một cách thuận tiện, ví dụ, bằng cách sử dụng các kỹ thuật làm thuần thục ái lực dựa vào sự biểu hiện của thể thực khuẩn như các kỹ thuật được mô tả ở đây. Tóm lại, một hoặc nhiều gốc trong L1, L2, L3, L4,

và/hoặc L5 được thay đổi (tức là, bổ sung, loại bỏ, hoặc thay thế) và biến thể CKP gắn kết với VEGF-A được biểu hiện ở thể thực khuẩn và được sàng lọc về ái lực gắn kết với VEGF-A. Theo các phương án nhất định về độ thuần thục ái lực, tính đa dạng được đưa vào các gen biến đổi được chọn để làm thuần thục bằng các phương pháp khác nhau (ví dụ, PCR dễ bị lỗi, sự sắp xếp vòng, hoặc gây đột biến hướng oligonucleotit). Sau đó, thư viện thứ cấp được tạo ra. Sau đó, thư viện này được sàng lọc để nhận dạng các biến thể CKP không tồn tại tự nhiên bất kỳ với ái lực mong muốn đối với VEGF-A. Theo các phương án nhất định, việc bổ sung tính đa dạng bao gồm cách tiếp cận hướng vòng, trong đó một vài gốc trong L1, L2, L3, L4, và/hoặc L5 (ví dụ, khoảng 5, khoảng 4-6, hoặc khoảng 6-10 gốc tại một thời điểm) được chọn ngẫu nhiên. Các gốc L1, L2, L3, L4, và/hoặc L5 liên quan đến sự gắn kết với phối tử đích có thể được nhận dạng, ví dụ, sử dụng sự gây đột biến hoặc tạo mô hình sàng lọc alanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGQSFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 215).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 216).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAKCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 542).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 363).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 364).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECMNQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 222).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECFYECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 223).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNILLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 405).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNILLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 406).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMSPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 407).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMTPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 408).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMQPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 409).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMNPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 410).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMEPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 411).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMDPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 412).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPSWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 415).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECLSGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 421).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECLTGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 422).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECLEGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 423).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCLCQYYQSCG (SEQ ID NO: 424).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 425).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCS (SEQ ID NO: 431).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNILLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 435).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 386).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNILLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 547).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNILQPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 548).

Theo các phương án nhất định, một hoặc nhiều axit amin trong trình tự của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây được thế bằng axit amin không tự nhiên. Theo các phương án nhất định, một hoặc nhiều axit amin được thế bằng axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, một hoặc nhiều axit amin mỗi loại được thế bằng axit amin không tự nhiên khác nhau. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm axit amin không tự nhiên ở vị trí axit amin bất kỳ trong L1, L2, L3, L4, và/hoặc L5, đối với cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 216), trong đó glyxin đầu tận cùng N bị chặn bằng C(=O)-oxetan-3yl.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAXCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 568, trong đó X là ornithin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin XCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 361), trong đó X là N-axetylglyxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362), trong đó X là sulfotyrosin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362), trong đó X là 3,4-diflo-L-phenylalanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362), trong đó X là 3,4-diclo-L-phenylalanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362), trong đó X là 4-clo-L-phenylalanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết

với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362), trong đó X là 3-F,4-Cl-L-phenylalanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362), trong đó X là 2-pyridon (NH para)-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPXWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 362), trong đó X là pyridon (NH meta)-L-alanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 218), trong đó X là norleuxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPFXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 219), trong đó X là 1-naphtylalanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPFXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 219), trong đó X là 2-naphtylalanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin XCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 221), trong đó X là PEG6-propargylglyxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPYWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 365), trong đó X là norleuxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 144), trong đó X là norleuxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145), trong đó X là norleuxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-D/E-CVS-N/K/X$_2$-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 540) trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất

định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPFWGCGRDFECVSKCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 545) trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX$_1$LPFWGCGRDFECVSX$_2$CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 546) trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX$_1$LPFWGCGRDF-N/K/X$_2$-CVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 541), trong đó X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là ornithin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPFWGCGRDFKCVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 561, ở đây X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin CNIXLPFWGCGRDFKCVSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 562, ở đây X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin CNIXLPFWGCGRDFKCVSECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 563, ở đây X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX1LPFWGCGRDFX2CVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 564, ở đây X1 là norleuxin và X2 là ornithin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX1LPFWGCGRDFX2CVSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 565, ở đây X1 là norleuxin và X2 là ornithin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX1LPFWGCGRDFX2CVSECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 566, ở đây X1 là norleuxin và X2 là ornithin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146), trong đó X là norleuxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX1LPYWGCGRDF-D/E-CME-N/K/X2-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 538) trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPYWGCGRDFECMEKCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 543), trong đó X là

norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX1LPYWGCGRDFECMEX2CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 544), trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX1LPYWGCGRDF-N/K/X2-CME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 539) trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPYWGCGRDFKCME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 555) trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPYWGCGRDFKCMEDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 556) trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPYWGCGRDFKCMEECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 557) trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX1LPYWGCGRDFX2CME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 558) trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX1LPYWGCGRDFX2CMEDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 559) trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX1LPYWGCGRDFX2CMEECICQYYQSCG (SEQ ID NO: 560) trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVX1QPYWGCGPDI-D/E-CLS-N/K/X2-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 534), trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVXQPYWGCGPDIDCLSKCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 536), trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVX1QPYWGCGPDIDCLSX2CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 537), trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVX1QPYWGCGPDI-N/K/X2-CLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 535),

trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224), trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVXQPYWGCGPDIKCLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 549), trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVXQPYWGCGPDIKCLSDCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 550), trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVXQPYWGCGPDIKCLSECICHWYNSCG (SEQ ID NO: 551), trong đó X là norleuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVX1QPYWGCGPDIX2CLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 552), trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVX1QPYWGCGPDIX2CLSDCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 553), trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVX1QPYWGCGPDIX2CLSECICHWYNSCG (SEQ ID NO: 554), trong đó X1 là norleuxin và X2 là ornithin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLXFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 413), trong đó X là gama-benzyl-L-prolin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLXFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 413), trong đó X là gama-(4-flo-benzyl)-L-prolin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLXFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 413), trong đó X là 4-OH-L-prolin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLXFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 413), trong đó X là 4-flo-L-prolin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin

GCNIMLXFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 413), trong đó X là 4-[4-(triflometyl)benzyl]-L-prolin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 417), trong đó X là N-metyl indol. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 417), trong đó X là N-etyl indol. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 417), trong đó X là N-isopropyl indol. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYXGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 417), trong đó X là 5-aza-indol.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là 4-metyl-L-phenylalanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là 2-naphtyl-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là 2-quinolyl-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là 4,4'-biphenyl-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là 3-(3-quinolinyl)-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là 3-(2-quinolinyl)-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin

GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là 4-metyl-2-pyridyl-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là benzothiazol-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là benzothiophen-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDXECLAGCVCQYYQSCG (SED ID NO: 419), trong đó X là 3-(3-isoquinolinyl)-L-alanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECXAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 420), trong đó X là t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentylglyxin). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECXAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 420), trong đó X là 3-xyclobutyl-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECXAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 420), trong đó X là 3-xyclopentyl-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECXAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 420), trong đó X là 5,5,5-Triflo-L-leuxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426), trong đó X là L-tert-Leuxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn

tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426), trong đó X là t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentylglyxin). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426), trong đó X là L-xyclopentylglyxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426), trong đó X là 3-xyclopentyl-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426), trong đó X là L-xyclobutyl-L-glyxin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426), trong đó X là 3-xyclobutyl-L-alanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 426), trong đó X là 5,5,5-Triflo-L-leuxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQXYQSCG (SEQ ID NO: 428), trong đó X là 2-pyridon. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQXYQSCG (SEQ ID NO: 428), trong đó X là 3,4-hydroxy-L-phenylalanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQXYQSCG (SEQ ID NO: 428), trong đó X là 3,4-flo phenylalanin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQXYQSCG (SEQ ID NO: 428), trong đó X là 3-flo,4-OH-L-phenylalanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYXQSCG (SEQ ID NO: 430), trong đó X là 2-Clo-L-Tyrosin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin

GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYXQSCG (SEQ ID NO: 430), trong đó X là 2-metyl-L- tyrosin. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYXQSCG (SEQ ID NO: 430), trong đó X là 2-etyl-L-tyrosin, hoặc 4-(naphtalen-1-ol-)-L-alanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIMLPYWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCX (SEQ ID NO: 432), trong đó X là D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metylglyxin, glyxin với đầu tận cùng carboxy của nó được chuyển hóa thành este của glyxerol, glyxin với đầu tận cùng carboxy của nó được chuyển hóa thành este của glycol, glyxin với đầu tận cùng carboxy của nó được chuyển hóa thành este của rượu oxetanyl, hoặc glyxin morpholin amit.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXQPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 436), trong đó X là norleuxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX$_1$LPYWGCGRDFECX$_2$EQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 437). Theo các phương án nhất định, X$_1$ và X$_2$ là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$ và X$_2$ là axit amin không tự nhiên khác nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$ và X$_2$ là norleuxin. Theo các phương án nhất định, X$_1$ là norleuxin và X$_2$ là 3-xyclobutyl-L-alanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIXLPYWGCGRDFECLEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 438), trong đó X là norleuxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNIX$_1$LPYWGCGRDFECX$_2$EQCX$_3$CQYYQSCG (SEQ ID NO: 439). Theo các phương án nhất định, X$_1$, X$_2$, và/hoặc X$_3$ là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$, X$_2$, và/hoặc X$_3$ không phải là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$ là norleuxin, X$_2$ là 3-xyclobutyl-L-alanin, và X$_3$ là xyclobutyl-L-glyxin. Theo các phương án nhất định, X$_1$ là norleuxin, X$_2$ là 3-xyclobutyl-L-alanin, và X$_3$ là 3-xyclobutyl-L-alanin. Theo các phương án nhất định, X$_1$ là norleuxin, X$_2$ là 3-xyclobutyl-L-alanin, và X$_3$ là norleuxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin CNIX$_1$QPYWGCGRDFECX$_2$EQCX$_3$CQYYQSCG (SEQ ID NO: 440). Theo các phương án nhất định, X$_1$, X$_2$, và/hoặc X$_3$ là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$, X$_2$, và/hoặc X$_3$ không phải là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$ là norleuxin, X$_2$ là 3-xyclobutyl-L-alanin, và X$_3$ là xyclobutyl-L-glyxin. Theo các phương án nhất định, X$_1$ là norleuxin, X$_2$ là 3-xyclobutyl-L-alanin, và X$_3$ là 3-xyclobutyl-L-alanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNILLPYWGCGRDFECXEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 441), trong đó X là 3-xyclobutyl-L-alanin hoặc t-butyl-L-alanin (còn được gọi là L-Nepentylglyxin).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCNILLPYWGCGRDFECMEQCXCQYYQSCG (SEQ ID NO: 442), trong đó X là xyclobutyl-L-glyxin hoặc 3-xyclobutyl-L-alanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin X$_1$CNIX$_2$LPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCX$_3$ (SEQ ID NO: 443). Theo các phương án nhất định, X$_1$, X$_2$, và/hoặc X$_3$ là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$, X$_2$, và/hoặc X$_3$ không phải là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$ là N-axetylglyxin, X$_2$ là norleuxin, và X$_3$ là glyxin amit.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin X$_1$CNILLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCX$_2$ (SEQ ID NO: 444). Theo các phương án nhất định, X$_1$ và X$_2$ là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$ và X$_2$ là axit amin không tự nhiên khác nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$ là N-axetylglyxin và X$_2$ là glyxin amit.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin X$_1$CNILQPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCX$_2$ (SEQ ID NO: 445). Theo các phương án nhất định, X$_1$ và X$_2$ là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$ và X$_2$ là axit amin không tự nhiên khác nhau. Theo các phương án nhất định, X$_1$ là N-axetylglyxin và X$_2$ là glyxin amit.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin X$_1$CNILQPYWGCGRDFECLEQCICQYYQSCX$_2$ (SEQ ID

NO: 446). Theo các phương án nhất định, X_1 và X_2 là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X_1 và X_2 là axit amin không tự nhiên khác nhau. Theo các phương án nhất định, X_1 là N-axetylglyxin và X_2 là glyxin amit.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVLQPYWGCGPDIDCXSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 447), trong đó X là 3-xyclobutyl-L-alanin hoặc t-butyl-L-alanin (L-Nepentylglyxin).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCXCHWYNSCG (SEQ ID NO: 448), trong đó X là xyclobutyl-L-glyxin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVX_1QPYWGCGPDIDCX_2SNC2X_3CHWYNSCG (SEQ ID NO: 449). Theo các phương án nhất định, X_1, X_2, và/hoặc X_3 là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X_1, X_2, và/hoặc X_3 không phải là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X_1 là norleuxin, X_2 là 3-xyclobutyl-L-alanin, và X_3 là xyclobutyl-L-glyxin. Theo các phương án nhất định, X_1 là norleuxin, X_2 là 3-xyclobutyl-L-alanin, và X_3 là 3-xyclobutyl-L-alanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin GCDVLQPYWGCGPDIDCX_1SNC2X_2CHWYNSCG (SEQ ID NO: 450). Theo các phương án nhất định, X_1 và X_2 là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X_1 và X_2 là axit amin không tự nhiên khác nhau. Theo các phương án nhất định, X_1 là 3-xyclobutyl-L-alanin, và X_2 là xyclobutyl-L-glyxin. Theo các phương án nhất định, X_1 là 3-xyclobutyl-L-alanin, và X_2 là 3-xyclobutyl-L-alanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin X_1CDVLQPYWGCGPDIDCX_2SNC2X_3CHWYNSCX_4 (SEQ ID NO: 451). Theo các phương án nhất định, X_1, X_2, X_3, và/hoặc X_4 là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X_1, X_2, X_3, và/hoặc X_4 không phải là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X_1 là N-axetylglyxin, X_2 là 3-xyclobutyl-L-alanin, X_3 là xyclobutyl-L-glyxin, và X_4 là glyxin amit Theo các phương án nhất định, X_1 là axetylglyxin, X_2 là xyclobutyl-L-alanin, X_3 là xyclobutyl-L-alanin, và X_4 là glyxin amit.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin X_1CDVX_2QPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCX_3 (SEQ ID NO: 452). Theo các phương án nhất định, X_1, X_2, và/hoặc X_3 là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X_1, X_2, và/hoặc X_3 không phải là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X_1 là N-axetylglyxin, X_2 là norleuxin, và X_3 là glyxin amit.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm trình tự axit amin X_1CDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCX_2 (SEQ ID NO: 453). Theo các phương án nhất định, X_1 và X_2 là axit amin không tự nhiên giống nhau. Theo các phương án nhất định, X_1 và X_2 là axit amin không tự nhiên khác nhau. Theo các phương án nhất định, X_1 là N-axetylglyxin và X_2 là glyxin amit.

Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, cả đầu tận cùng C và N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A đều được cải biến (như bị chặn). Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa. Theo các phương án nhất định, amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa. Theo các phương án nhất định, nhóm carboxyl đầu tận cùng C của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được amit hóa và amin đầu tận cùng N của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A được axetyl hóa.

Đặc điểm cấu trúc

Theo các phương án nhất định, cấu trúc của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây có liên kết cầu disulfua khác với protein WT EETI-II, tức là, khác với kiểu liên kết disulfua C1-C4, C2-C5, và C3-C6 đặc trưng của WT EETI-II. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây có liên kết cầu disulfua của C1-C4, C2-C3, và C5-C6. Các phương pháp xác định liên kết cầu disulfua của, ví dụ, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với

VEGF-A, bao gồm, ví dụ, bằng cách hòa tan và phân tích cấu trúc đồng tinh thể của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A trong phức chất với VEGF-A, nhờ phép đo phổ khối sau khi alkyl hóa khử một phần, hoặc nhờ phép đo phổ khối sau khi thủy phân protein, tiến hành tính toán cấu trúc như được mô tả trong Sampoli et al. (2000) *Proteins Struct Funct Gen*. 40, 168-174, v.v..

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A và có tỷ lệ chuỗi xoắn alpha ít nhất là 10%, ít nhất khoảng 15%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 35%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 45%, hoặc ít nhất khoảng 50%, bao gồm khoảng bất kỳ ở giữa các giá trị này. Theo các phương án nhất định, ít nhất 7, ít nhất 8, ít nhất 9, ít nhất 10, ít nhất 11, ít nhất 12, ít nhất 13, ít nhất 14, ít nhất 15, ít nhất 16, ít nhất 17, hoặc ít nhất 18 axit amin của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A tạo thành chuỗi xoắn alpha. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A có liên kết cầu disulfua của C1-C4, C2-C3, và C5-C6 và tỷ lệ chuỗi xoắn alpha ít nhất là 10%, ít nhất khoảng 15%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 35%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 45%, hoặc ít nhất khoảng 50%, bao gồm khoảng bất kỳ ở giữa các giá trị này. Theo các phương án nhất định, tỷ lệ chuỗi xoắn alpha của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được xác định bởi, ví dụ, quang phổ lưỡng sắc tròn (circular dichroism: CD), tán sắc quay quang học (optical rotary dispersion: ORD), cộng hưởng từ hạt nhân (nuclear magnetic resonance: NMR), bằng cách hòa tan và phân tích cấu trúc đồng tinh thể của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A trong phức chất với VEGF-A, nhờ phép đo phổ khối sau khi alkyl hóa khử một phần, hoặc nhờ phép đo phổ khối sau khi thủy phân protein.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây cạnh tranh để gắn kết với VEGF-A với CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai chứa L1 gồm trình tự axit amin NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33); L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin QYYQS (SEQ ID NO: 45), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây cạnh tranh để gắn kết với VEGF-A với CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với

VEGF-A thứ hai gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 52).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết với epitop giống nhau trên VEGF-A được gắn kết bởi CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai chứa L1 gồm trình tự axit amin NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33); L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin QYYQS (SEQ ID NO: 45), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết với epitop giống nhau trên VEGF-A được gắn kết bởi CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 52).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây cạnh tranh để gắn kết với VEGF-A với CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP gắn kết với VEGF-A thứ hai chứa L1 gồm trình tự axit amin NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33); L2 gồm trình tự axit amin GRDFE (SEQ ID NO: 97); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin QYYQS (SEQ ID NO: 45), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây cạnh tranh để gắn kết với VEGF-A với CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết với epitop giống nhau trên VEGF-A được gắn kết bởi CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai chứa L1 gồm trình tự axit amin NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33); L2 gồm trình tự axit amin GRDFE (SEQ ID NO: 97); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin QYYQS (SEQ ID NO: 45), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết với epitop giống nhau trên

VEGF-A được gắn kết bởi CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây cạnh tranh để gắn kết với VEGF-A với CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai chứa L1 gồm trình tự axit amin DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35); L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin HWYNS (SEQ ID NO: 46), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây cạnh tranh để gắn kết với VEGF-A với CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai gồm trình tự axit amin GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 55).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết với epitop giống nhau trên VEGF-A được gắn kết bởi CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai chứa L1 gồm trình tự axit amin DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35); L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin HWYNS (SEQ ID NO: 46), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết với epitop giống nhau trên VEGF-A được gắn kết bởi CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai gồm trình tự axit amin GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 55).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A protein được đề xuất ở đây cạnh tranh để gắn kết với VEGF-A với CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP gắn kết với VEGF-A thứ hai chứa L1 gồm trình tự axit amin DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35); L2 gồm trình tự axit amin GPDID (SEQ ID NO: 118); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin HWYNS (SEQ ID NO: 46), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được

đề xuất ở đây cạnh tranh để gắn kết với VEGF-A với CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai gồm trình tự axit amin GCDVMQPYWGCGPDIDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 123).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết với epitop giống nhau trên VEGF-A được gắn kết bởi CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai chứa L1 gồm trình tự axit amin DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35); L2 gồm trình tự axit amin GPDID (SEQ ID NO: 118); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin HWYNS (SEQ ID NO: 46), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết với epitop giống nhau trên VEGF-A được gắn kết bởi CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai, trong đó CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thứ hai gồm trình tự axit amin GCDVMQPYWGCGPDIDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 123).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết một epitop của VEGF-A chứa ít nhất một, ít nhất hai, ít nhất ba, ít nhất bốn, ít nhất năm, ít nhất sáu, ít nhất bảy, ít nhất tám, ít nhất chín, ít nhất mười, hoặc nhiều hơn mười axit amin được chọn từ nhóm gồm V14, V15, F17, D19,Y21, Q22, Y25, I46, K48, N62, D63, L66, M81, I83, K84, P85, H86, Q87, G88, Q89, I91, C104, R105, và P106. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết một epitop của VEGF-A chứa K48, N62, và D63. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết một epitop của VEGF-A chứa H86. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết một epitop của VEGF-A chứa Y21, Y25, và P106. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết một epitop của VEGF-A chứa M81, D19, và Q22. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết một epitop của VEGF-A chứa F17, M81, và I91. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết một epitop của VEGF-A chứa V14, F17, D19,

Q22, M81, và I91. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết một epitop của VEGF-A chứa Q22 và Y25.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết một epitop trên VEGF-A mà chồng lên epitop của VEGF-A được gắn kết bởi kháng thể kháng VEGF-A G6.31 (Fuh et al. (2006) *J. Biol. Chem.* 281, 6625-6631). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết một epitop trên VEGF-A mà chồng lên epitop của VEGF-A được gắn kết bởi Flt-1. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây gắn kết một epitop trên VEGF-A mà chồng lên epitop của VEGF-A được gắn kết bởi bevacizumab.

Đặc điểm chức năng

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên mà "gắn kết đặc hiệu" VEGF-A (như VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và/hoặc VEGF-A chuột) có giá trị ái lực gắn kết (Kd) không lớn hơn 1×10^{-7} M, tốt hơn là không lớn hơn 1×10^{-8} và tốt nhất là không lớn hơn 1×10^{-9} M) nhưng có ái lực gắn kết đối với thể tương đồng của VEGF-A hoặc yếu tố tăng trưởng khác mà kém hơn ít nhất khoảng 50 lần, hoặc ít nhất khoảng 500 lần, hoặc ít nhất khoảng 1000 lần, so với ái lực gắn kết đối với VEGF-A.

Theo các phương án nhất định, mức độ gắn kết của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được đề xuất ở đây với, ví dụ, không phải protein đích (ví dụ, thể tương đồng của VEGFA như VEGF-B, VEGF-C và VEGF-D) hoặc các yếu tố tăng trưởng khác (như P1GF, EGF, NGF, IGF và PDGF) nhỏ hơn 10% sự gắn kết của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A với VEGF-A như được xác định bằng phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, như ELISA, phân tích phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (FACS), hoặc kết tủa miễn dịch phóng xạ (RIA). Gắn kết đặc hiệu có thể được xác định, ví dụ, bằng cách xác định sự gắn kết của một phân tử so sánh với sự gắn kết của phân tử đối chứng, thường là phân tử có cấu trúc tương tự mà không có hoạt tính gắn kết. Ví dụ, gắn kết đặc hiệu có thể được xác định bằng sự cạnh tranh với phân tử đối chứng mà tương tự với đích, ví dụ, lượng dư của đích không được đánh dấu. Trong trường hợp này, gắn kết đặc hiệu được chỉ rõ nếu gắn kết của đích được đánh dấu với que thăm bị ức chế theo cách cạnh tranh bởi lượng dư của đích không được đánh dấu.

Các phương pháp đánh giá khác đối với sự gắn kết của CKP không tồn tại tự nhiên mà "gắn kết đặc hiệu" VEGF-A được mô tả trong các ví dụ.

Thuật ngữ "gắn kết đặc hiệu" hoặc "gắn kết đặc hiệu với" hoặc là "đặc hiệu đối với" một polypeptit cụ thể hoặc một epitop trên đích polypeptit cụ thể như được sử dụng ở đây có thể được biểu hiện, ví dụ, bằng phân tử có Kd đối với đích là ít nhất khoảng 10^{-4}M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-5}M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-6}M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-7}M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-8} M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-9}M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-10}M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-11}M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-12}M, hoặc lớn hơn. Theo một phương án, thuật ngữ "gắn kết đặc hiệu" dùng để chỉ sự gắn kết trong đó phân tử gắn kết với polypeptit cụ thể hoặc epitop trên polypeptit cụ thể mà không có sự gắn kết đáng kể với polypeptit hoặc epitop của polypeptit khác bất kỳ.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gắn kết với VEGF-A với Kd nằm trong khoảng từ 1 pM đến 500 nM. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gắn kết với VEGF-A với Kd nằm trong khoảng từ 1 pM đến 50 pM, nằm trong khoảng từ 50 pM đến 250 pM, nằm trong khoảng từ 250 pM đến 500 pM, nằm trong khoảng từ 500 pM đến 750 pM, nằm trong khoảng từ 750 pM đến 1 nM, nằm trong khoảng từ 1 nM đến 25 nM, nằm trong khoảng từ 25 nM đến 50 nM, nằm trong khoảng từ 50 nM đến 100 nM, nằm trong khoảng từ 100 nM đến 250 nM, hoặc nằm trong khoảng từ 250 nM đến 500 nM.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gắn kết với VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và/hoặc VEGF-A chuột. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A mà gắn kết với VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và VEGF-A chuột chứa L1 gồm trình tự axit amin NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33); L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin QYYQS (SEQ ID NO: 45), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A mà gắn kết với VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và VEGF-A chuột gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 52).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gắn kết với VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và VEGF-A chuột chứa L1 gồm trình

tự axit amin NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33); L2 gồm trình tự axit amin GRDFE (SEQ ID NO: 97); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin QYYQS (SEQ ID NO: 45), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A mà gắn kết với VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và VEGF-A chuột gồm trình tự axit amin GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG (SEQ ID NO: 102).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A mà gắn kết với VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và VEGF-A chuột chứa L1 gồm trình tự axit amin DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35); L2 gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin HWYNS (SEQ ID NO: 46), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A mà gắn kết với VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và VEGF-A chuột gồm trình tự axit amin GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 55).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A mà gắn kết với VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và VEGF-A chuột chứa L1 gồm trình tự axit amin DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35); L2 gồm trình tự axit amin GPDID (SEQ ID NO: 118); L3 gồm trình tự axit amin LAG; L4 gồm trình tự axit amin V, và L5 gồm trình tự axit amin HWYNS (SEQ ID NO: 46), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A mà gắn kết với VEGF-A người, VEGF-A chuột nhắt, và VEGF-A chuột gồm trình tự axit amin GCDVMQPYWGCGPDIDCLAGCVCHWYNSCG (SEQ ID NO: 123).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 0,5 nM, nhỏ hơn 0,6 nM, nhỏ hơn 0,7 nM, nhỏ hơn 0,8 nM, nhỏ hơn 0,9 nM, hoặc nhỏ hơn 1,0nM, bao gồm khoảng bất kỳ ở giữa các giá trị này.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A không ức chế hoạt tính của trypsin proteaza như được xác định trong thử nghiệm tách chất nền peptit (ví dụ, thử nghiệm tách chất nền peptit được mô tả trong các ví dụ).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A đề kháng với sự tiêu hóa trypsin. Theo các phương án nhất định, khoảng 30% hoặc nhỏ hơn, khoảng 25% hoặc nhỏ hơn, hoặc khoảng 20% hoặc nhỏ hơn CKP không tồn tại tự

nhiên gắn kết với VEGF-A được tách ở Arg13 trong vòng 2 sau 24 giờ ủ với trypsin ở 37°C.

Phân tử axit nucleic mã hóa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây, vectơ biểu hiện chứa phân tử axit nucleic mã hóa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A, và các tế bào chứa phân tử axit nucleic cũng được dự định. Cũng được đề xuất ở đây là phương pháp sản xuất CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây bằng cách nuôi cấy các tế bào, biểu hiện CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A, và thu hồi CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A từ môi trường nuôi cấy tế bào.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được tạo ra bằng cách dịch mã *in vitro*, như được mô tả ở đây.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được tạo bằng quá trình tổng hợp peptit hóa học, ví dụ, bằng cách ghép peptit L1, L2, L3, L4, và/hoặc L5 được tổng hợp hóa học vào cấu trúc khung (như cấu trúc khung I), hoặc bằng cách tổng hợp hóa học toàn bộ CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A.

Xystin knot peptit không tồn tại tự nhiên (CKP) gắn kết với protein 6 liên quan đến thụ thể lipoprotein mật độ thấp (LDL) (LRP6) ở người

Thụ thể LDL là protein bề mặt tế bào chuyển màng liên quan đến sự nhập nội bào gián tiếp gây ra bởi thụ thể của phối tử lipoprotein và protein. Protein 6 liên quan đến thụ thể LDL ở người (LRP6) (số truy cập: NM_002336 (mRNA) và NP_002327 (protein); UniProtKB: O75581) có chức năng làm thụ thể hoặc, với Frizzled, đồng thụ thể đối với Wnt và do đó truyền tầng tín hiệu Wnt/beta-catenin tiêu chuẩn (Katoh *et al.* (2007) *Clin Cancer Res* 13:4042-4045). Thông qua sự tương tác của nó với tầng tín hiệu Wnt/beta-catenin, LRP6 đóng vai trò trong quá trình điều hòa sự biệt hóa tế bào, sự tăng sinh, và sự di trú, và trong quá trình phát triển nhiều loại bệnh ung thư (Li *et al.* (2004) *Oncogene* 23:9129-9135; Tung *et al.* (2012) PLoS ONE 7(5): e36565. doi:10.1371/journal.pone.0036565; Liu *et al.* (2010) *Proc Natl Acad Sci USA* 107:5136-5141).

Tín hiệu Wnt liên quan đến nhiều quá trình sinh học. Đối với bệnh nó liên quan đến bệnh ung thư và bệnh di căn, chứng loãng xương và quá trình chuyển hóa và bệnh

xương khác, bệnh thần kinh và thoái hóa thần kinh, bệnh viêm đa khớp dạng thấp và bệnh viêm khác. Việc ức chế tín hiệu Wnt bằng cách chặn LRP6 có thể có các khoảng ứng dụng điều trị rộng. Sự mất xương là vấn đề y học nghiêm trọng, không chỉ ở chứng loãng xương sau mãn kinh, mà còn ở bệnh viêm đa khớp dạng thấp. Xương bị thoái hóa ở bệnh đa u tủy xương và ở sự di căn xương. Do đó, phác đồ điều trị nhắm vào việc làm chắc xương, ngăn sự gãy, hoặc phục hồi xương bị thương tổn là mối quan tâm rất lớn (Kawai *et al.* (2011) *Nat. Rev. Drug Discov.* 10, 141–156; Mason and Williams (2010) *J. Osteoporosis*, vol. 2010, Article ID 460120, 9 pages; doi:10.4061/2010/460120). Chất ức chế quá trình Wnt DKK1 và SOST, vì vai trò của chúng trong việc ức chế sự hình thành xương mới, được coi là đích điều trị hứa hẹn cao; kháng thể với sự trung hòa chức năng của SOST thể hiện hoạt tính tiền lâm sàng đáng kể (Ominsky *et al.* (2010) *J. Bone Miner. Res.* 25, 948–959) và hiện nay đang thử nghiệm lâm sàng ở người (Padhi *et al.* (2011) *J. Bone Miner. Res.* 26, 19–26.

Tín hiệu Wnt bị điều hòa sai liên quan đến các bệnh từ chứng loãng xương đến bệnh ung thư (Clevers (2006) *Cell* 127: 469-80; MacDonald *et al.* 2009. *Dev Cell* 17: 9-26; Nusse (2008) *Cell Res* 18: 523-7; Polakis (2007) *Curr Opin Genet Dev* 17: 45-51). Danh sách này đã mở rộng bao gồm các rối loạn chuyển hóa (Mani *et al.* (2007) *Science* 315: 1278-82 và thoái hóa thần kinh (Caricasole *et al.* (2004) *J* Neurosci 24: 6021-7; De Ferrari *et al.* (2007) *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 9434-9). Sự liên kết đặc biệt rõ ràng tồn tại giữa sự đột biến dòng tinh trong polyp tuyến của protein (adenomatous polyposis coli: APC), mà ngăn sự điều hòa hữu hiệu của mức β-catenin, và bệnh ung thư trực kết tràng (Polakis (2007) *Curr Opin Genet Dev* 17: 45-51). Cũng lưu ý cụ thể là mối quan hệ di truyền mạnh giữa LRP5 và sự cân bằng nội mô của xương. Sự đột biến giảm chức năng trong LRP5 gây ra hội chứng loãng xương giả u thần kinh đệm (osteoporosis pseudoglioma: OPPG) trong rối loạn liệt gen thể nhiễm sắc định hình, được đặc trưng bởi khối lượng xương giảm, khiếm khuyết ở mắt và tình trạng dễ gãy (Gong *et al.* (2001) *Cell* 107: 513-23.

Được đề xuất ở đây là CKP không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với protein 6 liên quan đến thụ thể lipoprotein (LRP6) mật độ thấp ở người, trong đó CKP không tự nhiên chứa cấu trúc khung xystin sau (tức là, cấu trúc khung I):

$Z_1C_1\mathbf{L1}C_2\mathbf{L2}C_3\mathbf{L3}C_4\mathbf{L4}C_5\mathbf{L5}C_6Z_2$ (I)

trong đó:

Z_1 và Z_2 là axit amin bất kỳ;

L1 là vòng 1 và có cấu trúc được chọn từ nhóm gồm: $X_1X_2X_3X_4X_5X_6$, $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$, $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8$, $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9$, và $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}$, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 - X_{10} là axit amin bất kỳ;

L2 là vòng 2 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3X_4X_5$, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ;

L3 là vòng 3 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3$ trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_3 là axit amin bất kỳ;

L4 là vòng 4 và có cấu trúc: X_1, trong đó X_1 là axit amin bất kỳ; và

L5 là vòng 5 và có cấu trúc: $X_1X_2X_3X_4X_5$, trong đó mỗi nhóm trong số X_1 – X_5 là axit amin bất kỳ.

Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 của xystin knot peptit (CKP) không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với LRP6 là G. Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 gồm nhiều hơn một axit amin. Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 gồm 4 axit amin. Theo các phương án nhất định, Z_1 và/hoặc Z_2 gồm 5 axit amin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 trong đó X_1 là axit amin được chọn từ R, V, M, A, G, N, S, và E; trong đó X_2 là axit amin được chọn từ T, N, S, G, R, và A; trong đó X_3 là axit amin được chọn từ N, R, H, V, K, S, G, I, và Y; trong đó X_4 là axit amin được chọn từ R, V, N, I, K, S, và T; trong đó X_5 là axit amin được chọn từ V, R, K, I, T, S, L, và N; và trong đó X_6 là axit amin được chọn từ K, G, A, I, R, N, S, và V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 trong đó X_7 là axit amin được chọn từ G, R, K, E, P, và T. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 trong đó X_8 là axit amin được chọn từ G, R, K, Q, A, và S. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 trong đó X_9 là axit amin được chọn từ R hoặc G. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 trong đó X_{10} là axit amin được chọn từ E, W, và G. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L5 trong đó X_1 là axit amin được chọn từ G, S, N, Y, A, và R; trong đó X_2 là axit amin được chọn từ P, G, S, V, E, R, F, và D; trong đó X_3 là axit amin được chọn từ N, G, S, E, P, K, H, và R; trong đó X_4 là axit amin được chọn từ G, R, H, S, Q, V, và D; và trong

đó X_5 là axit amin được chọn từ F, D, N, R, G, Y, S, và T. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L2 trong đó X_1 là K, X_2 là Q, X_3 là D, X_4 là S, và X_5 là D. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L3 trong đó X_1 là L, X_2 là A, và X_3 là G. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L4 trong đó X_1 là V.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 ức chế cạnh tranh sự gắn kết của phân tử cạnh tranh với LRP6 người. Theo các phương án nhất định, phân tử cạnh tranh là kháng thể kháng LRP6. Theo các phương án nhất định, phân tử cạnh tranh là CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 thứ hai.

CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 mà gắn kết để chồng lên hoặc giống với diện tích trên đích có thể được nhận dạng bằng thử nghiệm ức chế/gắn kết cạnh tranh. Thử nghiệm này là đã biết rõ trong lĩnh vực này và được mô tả trong, ví dụ, S. J. Mather (ed.) *1996. Current Directions in Radiopharmaceutical Research and Development,* 169- 179, Kluwer Academic Publishers; Zettner (1973) *Clin. Chem.* 19, 699-705; Gao (2012) *Analytical Methods* 4, 3718-3723.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 gắn kết với epitop giống nhau của LRP6 người được gắn kết bởi CKP không tồn tại tự nhiên thứ hai gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin V/R/N/S/E/G-N/S/G/R-R/V/K/S/N/I/Y-V/N/I/R/S/T-R/K/I/N-G/I/R/K/S/A (SEQ ID NO: 185) hoặc A/R/M/V/G/S-N/T/S/A-R/N/H-V/R/K-K/V/I-R/K/A/N/S/V-T/G/R/K/P-S/G/R/A (SEQ ID NO: 186) hoặc R/A/Q-S/A-G/S/N/I-N/K-T/S/L/R-I/R/V-R/E/K-K/Q/A/R-R/G/Q-E/W/G/R (SEQ ID NO: 187); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin G/S/N/Y/A/R-P/G/S/V/E/R/F/D-N/G/S/E/P/K/H/R-G/R/H/S/Q/V/D-F/D/N/R/G/Y/S/T (SEQ ID NO: 188), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin V/R/N/S/E/G-N/S/G/R-R/V/K/S/N/I/Y-V/N/I/R/S/T-R/K/I/N-G/I/R/K/S/A (SEQ ID NO: 185) hoặc A/R/M/V/G/S-N/T/S/A-R/N/H-V/R/K-K/V/I-R/K/A/N/S/V-T/G/R/K/P-S/G/R/A (SEQ ID NO: 186) hoặc R/A-S-G/S/N-N/K-T/S/L-I/R-R/E-K/Q/A-R/G-E/W/G (SEQ ID NO: 187)), có dựa vào cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 còn chứa L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93). Theo các

phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 còn chứa L3 mà gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 còn chứa L4 mà gồm axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 còn chứa L5 mà gồm trình tự axit amin G/S/N/Y/A/R-P/G/S/V/E/R/F/D-N/G/S/E/P/K/H/R-G/R/H/S/Q/V/D-F/D/N/R/G/Y/S/T (SEQ ID NO: 188)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 và/hoặc L5 trong số bất kỳ CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được mô tả ở đây. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin được nêu trong trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 147-168 và 367, đối với cấu trúc khung I. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 còn chứa L2 mà gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 còn chứa L3 mà gồm trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 còn chứa L4 gồm trình tự axit amin V. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 còn chứa L5 mà gồm trình tự axit amin được nêu trong trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 19 và 169-184.

Trình tự axit amin L1 và L5 nêu trên được nêu trong **Bảng 18** dưới đây:

Bảng 18

RTNRVKGG (SEQ ID NO: 147)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
VNRVRG (SEQ ID NO: 148)	SGGRD (SEQ ID NO: 169)
MNHVKARR (SEQ ID NO: 149)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
RSVNKI (SEQ ID NO: 150)	GSSRN (SEQ ID NO: 170)
VNKIKG (SEQ ID NO: 151)	GVEGR (SEQ ID NO: 171)
RNSIKR (SEQ ID NO: 152)	SVGHG (SEQ ID NO: 172)
VSNRVNKG (SEQ ID NO: 153)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
RGNIIK (SEQ ID NO: 154)	NESRG (SEQ ID NO: 173)

RSGNTIRKRE (SEQ ID NO: 155)	GGPGG (SEQ ID NO: 174)
ASSNSIRQGW (SEQ ID NO: 156)	GPKSN (SEQ ID NO: 175)
RSNRIR (SEQ ID NO: 157)	YGHGD (SEQ ID NO: 176)
RSNKLREARG (SEQ ID NO: 158)	GSRQD (SEQ ID NO: 177)
VNSVKR (SEQ ID NO: 159)	SRGVN (SEQ ID NO: 178)
GSNKIRPR (SEQ ID NO: 160)	GPNDF (SEQ ID NO: 179)
NRIRNS (SEQ ID NO: 161)	GRGDY (SEQ ID NO: 180)
SRNSIK (SEQ ID NO: 162)	ASGSS (SEQ ID NO: 181)
SNYVKR (SEQ ID NO: 163)	SPGGR (SEQ ID NO: 182)
RANRVSGR (SEQ ID NO: 164)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
SNRVKVRA (SEQ ID NO: 165)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
ENRTKG (SEQ ID NO: 166)	GFRGT (SEQ ID NO: 183)
GNKIRA (SEQ ID NO: 167)	RDRVG (SEQ ID NO: 184)
ANRVKRTS (SEQ ID NO: 168)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)
QAINRVKRQR (SEQ ID NO: 367)	
V/R/N/S/E/G-N/S/G/R-R/V/K/S/N/I/Y-V/N/I/R/S/T-R/K/I/N-G/I/R/K/S/A (SEQ ID NO: 185)	A/R/M/V/G/S-N/T/S/A-R/N/H-V/R/K-K/V/I-R/K/A/N/S/V-T/G/R/K/P-S/G/R/A (SEQ ID NO: 186)
R/A-S-G/S/N-N/K-T/S/L-I/R-R/E-K/Q/A-R/G-E/W/G (SEQ ID NO: 187)	G/S/N/Y/A/R-P/G/S/V/E/R/F/D-N/G/S/E/P/K/H/R-G/R/H/S/Q/V/D-F/D/N/R/G/Y/S/T (SEQ ID NO: 188)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin RTNRVKGG (SEQ ID NO: 147); L2 mà gồm trình

tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GPNGF (SEQ ID NO: 19), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin VNRVRG (SEQ ID NO: 148); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin SGGRD (SEQ ID NO: 169), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin MNHVKARR (SEQ ID NO: 149); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GPNGF (SEQ ID NO: 19), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin RSVNKI (SEQ ID NO: 150); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GSSRN (SEQ ID NO: 170), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin VNKIKG (SEQ ID NO: 151); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GVEGR (SEQ ID NO: 29), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin RNSIKR (SEQ ID NO: 152); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin SVGHG (SEQ ID NO: 172), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin VSNRVNKG (SEQ ID NO: 153); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà

gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GPNGF (SEQ ID NO: 19), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin RGNIIK (SEQ ID NO: 154); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin NESRG (SEQ ID NO: 173), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin RSGNTIRKRE (SEQ ID NO: 155); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GGPGG (SEQ ID NO: 174), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin ASSNSIRQGW (SEQ ID NO: 156); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GPKSN (SEQ ID NO: 175), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin RSNRIR (SEQ ID NO: 157); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin YGHGD (SEQ ID NO: 176), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin RSNKLREARG (SEQ ID NO: 158); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GSRQD (SEQ ID NO: 177), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin VNSVKR (SEQ ID NO: 159); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin SRGVN (SEQ ID NO: 178), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin GSNKIRPR (SEQ ID NO: 160); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GPNDF (SEQ ID NO: 179), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin NRIRNS (SEQ ID NO: 161); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GRGDY (SEQ ID NO: 180), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin SRNSIK (SEQ ID NO: 162); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin ASGSS (SEQ ID NO: 181), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin SNYVKR (SEQ ID NO: 163); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin SPGGR (SEQ ID NO: 182), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin RANRVSGR (SEQ ID NO: 164); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GPNGF (SEQ ID NO: 19), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin SNRVKVRA (SEQ ID NO: 165); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GPNGF (SEQ ID NO: 19), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin ENRTKG (SEQ ID NO: 166); L2 mà gồm trình tự

axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GFRGT (SEQ ID NO: 183), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin GNKIRA (SEQ ID NO: 167); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin RDRVG (SEQ ID NO: 184), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin ANRVKRTS (SEQ ID NO: 168); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GPNGF (SEQ ID NO: 19), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 chứa L1 mà gồm trình tự axit amin QAINRVKRQR (SEQ ID NO: 367); L2 mà gồm trình tự axit amin KQDSD (SEQ ID NO: 93); L3 mà gồm trình tự axit amin LAG; L4 mà gồm axit amin V; và L5 mà gồm trình tự axit amin GPNGF (SEQ ID NO: 19), có dựa vào cấu trúc khung I.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 gồm trình tự axit amin được nêu trong trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 189-210 và 366. SEQ ID NO: 189-210 và 366 được nêu dưới đây.

GCRTNRVKGGCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 189)

GCVNRVRGCKQDSDCLAGCVCSGGRDCG (SEQ ID NO: 190)

GCMNHVKARRCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 191)

GCRSVNKICKQDSDCLAGCVCGSSRNCG (SEQ ID NO: 192)

GCVNKIKGCKQDSDCLAGCVCGVEGRCG (SEQ ID NO: 193)

GCRNSIKRCKQNSDCLAGCVCSVGHGCG (SEQ ID NO: 194)

GCVSNRVNKGCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 195)

GCRGNIIKCKQDSDCLAGCVCNESRGCG (SEQ ID NO: 196)

GCRSGNTIRKRECKQDSDCLAGCVCGGPGGCG (SEQ ID NO: 197)

GCASSNSIRQGWCKQDSDCLAGCVCGPKSNCG (SEQ ID NO: 198)

GCRSNRIRCKQDSDCLAGCVCYGHGDCG (SEQ ID NO: 199)

GCRSNKLREARGCKQDSDCLAGCVCGSRQDCG (SEQ ID NO: 200)

GCVNSVKRCKQDSDCLAGCVCSRGVNCG (SEQ ID NO: 201)

GCGSNKIRPRCKQDSDCLAGCVCGPNDFCG (SEQ ID NO: 202)

GCNRIRNSCKQDSDCLAGCVCGRGDYCG (SEQ ID NO: 203)

GCSRNSIKCKQDSDCLAGCVCASGSSCG (SEQ ID NO: 204)

GCSNYVKRCKQDSDCLAGCVCSPGGRCG (SEQ ID NO: 205)

GCRANRVSGRCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 206)

GCSNRVKVRACKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 207)

GCENRTKGCKQDSDCLAGCVCGFRGTCG (SEQ ID NO: 208)

GCGNKIRACKQDSDCLAGCVCRDRVGCG (SEQ ID NO: 209)

GCANRVKRTSCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 210)

GCQAINRVKRQRCKQDSDCLAGCVCGPNGFCG (SEQ ID NO: 366)

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 là biến thể của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được mô tả ở đây. Theo các phương án nhất định, biến thể này gồm ít nhất 1, ít nhất 2, ít nhất 3, ít nhất 4, ít nhất 5, ít nhất 6, ít nhất 7, ít nhất 8, ít nhất 9, hoặc ít nhất 10 sự thay thế axit amin trong một hoặc nhiều trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 19, 93, 147-168, 169-184, và 189-210 và/hoặc trong trình tự axit amin LAG. Theo các phương án nhất định, (các) thay thế axit amin là (các) thay thế axit amin bảo toàn. Theo các phương án nhất định, sự thay thế axit amin không làm giảm đáng kể khả năng của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 để gắn kết với LRP6 người. Ví dụ, sự thay đổi bảo toàn (ví dụ, sự thay thế bảo toàn như được đề xuất ở đây) không làm giảm đáng kể ái lực gắn kết LRP6 có thể được tạo ra. Ái lực gắn kết của biến thể CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 có thể được đánh giá bằng cách sử dụng phương pháp được mô tả trong các ví dụ dưới đây.

Sự thay thế bảo toàn được nêu trong **Bảng 17** nêu trên dưới tiêu đề "sự thay thế bảo toàn." Sự thay đổi đáng kể hơn được nêu trong **Bảng 17** dưới tiêu đề "sự thay thế làm ví dụ," và như được mô tả thêm dưới đây có dựa vào các nhóm mạch bên của axit amin.

Sự thay thế không bảo toàn sẽ gây ra sự thay đổi thành phần của một trong các nhóm này cho nhóm khác. Biến thể thay thế làm ví dụ là CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 đã thuần thục ái lực, mà có thể được tạo ra một cách tiện lợi, ví dụ, bằng cách sử dụng các kỹ thuật làm thuần thục ái lực dựa vào sự biểu hiện của thể thực khuẩn như được mô tả ở đây. Tóm lại, một hoặc nhiều gốc trong L1, L2, L3, L4, và/hoặc L5 được thay đổi (tức là, được bổ sung thêm, loại bỏ, hoặc thay thế) và biến thể CKP gắn kết với LRP6 được biểu hiện ở thể thực khuẩn và được sàng lọc về ái lực gắn kết LRP6. Theo các phương án nhất định về sự làm thuần thục ái lực, tính đa dạng được đưa vào các gen biến đổi được chọn để làm thuần thục bởi phương pháp bất kỳ (ví dụ, PCR dễ bị lỗi, sự sắp xếp vòng, hoặc gây đột biến hướng oligonucleotit). Sau đó, thư viện thứ cấp được tạo ra. Sau đó, thư viện này được sàng lọc để nhận dạng các biến thể CKP không tồn tại tự nhiên bất kỳ với ái lực mong muốn đối với VEGF-A. Theo các phương án nhất định, việc bổ sung tính đa dạng bao gồm cách tiếp cận hướng vòng, trong đó một vài gốc trong L1, L2, L3, L4, và/hoặc L5 (ví dụ, khoảng 5, khoảng 4-6, hoặc khoảng 6-10 gốc tại một thời điểm) được chọn ngẫu nhiên. Các gốc L1, L2, L3, L4, và/hoặc L5 liên quan đến sự gắn kết với phối tử đích có thể được nhận dạng, ví dụ, sử dụng sự gây đột biến hoặc tạo mô hình sàng lọc alanin.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên "gắn kết đặc hiệu" với LRP6 người (tức là, có giá trị ái lực gắn kết (Kd) không lớn hơn 1 x 10^{-7} M, tốt hơn là không lớn hơn 1 x 10^{-8} và tốt nhất là không lớn hơn 1 x 10^{-9} M) nhưng có ái lực gắn kết đối với protein LRP khác kém hơn ít nhất khoảng 50 lần, hoặc ít nhất khoảng 500 lần, hoặc ít nhất khoảng 1000 lần, so với ái lực gắn kết đối với LRP6.

Theo các phương án nhất định, mức độ gắn kết của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết LRP6 với không phải protein đích (ví dụ, thể tương đồng LRP6 như LRP1, LRP1B, LRP2, LRP3, LRP4, LRP5, LRP8, LRP10, LRP11, và LRP12) nhỏ hơn 10% sự gắn kết của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết LRP6 với LRP6 người như được xác định bởi các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, như ELISA, phân tích phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (FACS) hoặc kết tủa miễn dịch phóng xạ (RIA). Gắn kết đặc hiệu có thể được xác định, ví dụ, bằng cách xác định sự gắn kết của phân tử so với sự gắn kết của phân tử đối chứng, mà thường là phân tử có cấu trúc tương tự mà không có ái lực gắn kết. Ví dụ, gắn kết đặc hiệu có thể được xác định bằng sự cạnh tranh với phân tử đối chứng tương tự với đích, ví dụ, lượng dư đích không được đánh dấu. Trong trường

hợp này, gắn kết đặc hiệu được chỉ ra nếu sự gắn kết của đích được đánh dấu với que thăm được ức chế cạnh tranh bởi lượng dự đích không được đánh dấu. Thuật ngữ "gắn kết đặc hiệu" hoặc "gắn kết đặc hiệu với" hoặc là "đặc hiệu đối với" polypeptit cụ thể hoặc một epitop trên đích polypeptit cụ thể như được sử dụng ở đây có thể được biểu hiện, ví dụ, bằng phân tử có Kd đối với đích ít nhất khoảng 10^{-4} M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-5} M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-6} M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-7} M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-8} M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-9} M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-10} M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-11} M, theo cách khác là ít nhất khoảng 10^{-12} M, hoặc lớn hơn. Theo một phương án, thuật ngữ "gắn kết đặc hiệu" dùng để chỉ sự gắn kết trong đó phân tử gắn kết với polypeptit cụ thể hoặc epitop trên polypeptit cụ thể mà không gắn kết đáng kể với polypeptit bất kỳ khác hoặc epitop của polypeptit.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 gắn kết với LRP6 người với Kd nằm trong khoảng từ 1 pM đến 500 nM. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với protein LRP6 mà gắn kết đặc hiệu LRP6 gắn kết với LRP6 người với Kd nằm trong khoảng từ 1 pM đến 50 pM, nằm trong khoảng từ 50 pM đến 250 pM, nằm trong khoảng từ 250 pM đến 500 pM, nằm trong khoảng từ 500 pM đến 750 pM, nằm trong khoảng từ 750 pM đến 1 nM, nằm trong khoảng từ 1 nM đến 25 nM, nằm trong khoảng từ 25 nM đến 50 nM, nằm trong khoảng từ 50 nM đến 100 nM, nằm trong khoảng từ 100 nM đến 250 nM, hoặc nằm trong khoảng từ 250 nM đến 500 nM, bao gồm khoảng bất kỳ ở giữa các giá trị này.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 ức chế tín hiệu Wnt1, ví dụ, như được xác định bằng cách sử dụng các phương pháp được mô tả trong các ví dụ dưới đây.

Phân tử axit nucleic mã hóa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được mô tả, vectơ biểu hiện chứa phân tử axit nucleic mã hóa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6, và các tế bào chứa phân tử axit nucleic cũng được dự định. Cũng được đề xuất ở đây là các phương pháp sản xuất CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 bằng cách nuôi cấy các tế bào này, biểu hiện CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6, và thu hồi CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 từ môi trường nuôi cấy tế bào.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được tạo ra thông qua sự dịch mã *in vitro*, như được mô tả ở đây.

Như được mô tả ở đây, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được tạo ra bằng quá trình tổng hợp hóa học peptit, ví dụ, bằng cách ghép L1, L2, L3, L4, và/hoặc L5 peptit được tổng hợp hóa học lên khung EETI-II, hoặc bằng cách tổng hợp hóa học toàn bộ CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 làm chất điều trị để điều trị các bệnh hoặc tình trạng trong đó hoạt tính LRP6 quá mức có liên quan.

Phương pháp sản xuất

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được tạo ra bằng kỹ thuật di truyền. Các phương pháp gây đột biến đã được mô tả trước đó (cùng với các phương pháp thích hợp để sàng lọc hoặc lựa chọn). Các phương pháp gây đột biến này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ví dụ, PCR dễ bị lỗi, sự sắp xếp vòng, hoặc gây đột biến hướng oligonucleotit, chèn nucleotit ngẫu nhiên hoặc các phương pháp trước khi tái tổ hợp. Chi tiết thêm về các phương pháp này được mô tả trong, ví dụ, Abou-Nadler *et al.* (2010) *Bioengineered Bug*s 1, 337-340; Firth *et al.* (2005) *Bioinformatics* 21, 3314-3315; Cirino *et al.* (2003) *Methods Mol Biol* 231, 3-9; Pirakitikulr (2010) *Protein Sci* 19, 2336-2346; Steffens *et al.* (2007) *J. Biomol Tech* 18, 147-149; và các tài liệu khác. Do đó, theo các phương án nhất định, được đề xuất là CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được tạo ra bằng các kỹ thuật di truyền.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được tạo ra bằng sự dịch mã *in vitro*. Tóm lại, sự dịch mã *in vitro* gây ra sự tách dòng (các) trình tự mã hóa protein vào vectơ chứa gen khởi đầu, tạo ra ARN thông tin bằng cách sao chép (các) trình tự đã tách dòng bằng ARN polymeraza, và tổng hợp protein bằng sự dịch mã ARN thông tin *in vitro*, ví dụ, sử dụng dịch chiết không có tế bào. Protein biến thể mong muốn có thể được tạo ra đơn giản bằng cách thay đổi trình tự mã hóa protein đã tách dòng. Nhiều ARN thông tin có thể được dịch mã hữu hiệu trong dịch chiết mầm lúa mì hoặc trong dịch tan tế bào

lưới của thỏ. Chi tiết thêm về sự dịch mã *in vitro* được mô tả trong, ví dụ, Hope et al. (1985) *Cell* 43, 177-188; Hope et al. (1986) *Cell* 46, 885-894; Hope et al. (1987) *EMBO J.* 6, 2781-2784; Hope et al. (1988) *Nature* 333, 635-640; và Melton et al. (1984) *Nucl. Acids Res.*12, 7057-7070.

Do đó, được đề xuất là phân tử axit nucleic mã hóa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được mô tả ở đây. Vectơ biểu hiện gắn kết được với phân tử axit nucleic mã hóa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 cũng được đề xuất. Các tế bào chủ (bao gồm, ví dụ, tế bào chủ của sinh vật nhân nguyên thủy như E. coli, tế bào chủ của sinh vật có nhân thực như tế bào nấm men, tế bào động vật có vú, tế bào CHO, v.v..) chứa axit nucleic mã hóa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 cũng được đề xuất.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được tạo ra bằng sự dịch mã *in vitro*. Tóm lại, sự dịch mã *in vitro* gây ra sự tách dòng (các) trình tự mã hóa protein vào vectơ chứa gen khởi đầu, tạo ra ARN thông tin bằng cách sao chép (các) trình tự đã tách dòng bằng ARN polymeraza, và tổng hợp protein bằng sự dịch mã ARN thông tin *in vitro*, ví dụ, sử dụng dịch chiết không có tế bào. Protein đột biến mong muốn có thể được tạo ra đơn giản bằng cách thay đổi trình tự mã hóa protein đã tách dòng. Nhiều ARN thông tin có thể được dịch mã hữu hiệu trong dịch chiết mầm lúa mì hoặc trong dịch tan tế bào lưới của thỏ. Chi tiết thêm về sự dịch mã *in vitro* được mô tả trong, ví dụ, Hope et al. (1985) *Cell* 43, 177-188; Hope et al. (1986) *Cell* 46, 885-894; Hope et al. (1987) *EMBO J.* 6, 2781-2784; Hope et al. (1988) *Nature* 333, 635-640; và Melton et al. (1984) *Nucl. Acids Res.*12, 7057-7070.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được tạo ra bằng tổng hợp hóa học. Theo các phương án nhất định, L1, L2, L3, L4, và/hoặc L5 peptit được tổng hợp hóa học được ghép vào khung trên cơ sở EETI-II (như cấu trúc khung I) để tạo thành CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6. Theo các phương án nhất định, toàn bộ CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc toàn bộ CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được tổng hợp hóa học. Các phương pháp gồm tổng hợp peptit pha rắn và pha lỏng là đã biết rõ trong

lĩnh vực này và được mô tả chi tiết trong, ví dụ, Methods of Molecular Biology, *35*, Peptide Synthesis Protocols, (M. W. Pennington và B. M. Dunn Eds), Springer, 1994; Welsch *et al.* (2010) *Curr Opin Chem Biol* 14, 1-15; Methods of Enzymology, *289*, Solid Phase Peptide Synthesis, (G. B. Fields Ed.), Academic Press, 1997; Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins, (P. Lloyd-Williams, F. Albericio, and E. Giralt Eds), CRC Press, 1997; Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis, A Practical Approach, (W. C. Chan, P. D. White Eds), Oxford University Press, 2000; Solid Phase Synthesis, A Practical Guide, (S. F. Kates, F Albericio Eds), Marcel Dekker, 2000; P. Seneci, Solid-Phase Synthesis and Combinatorial Technologies, John Wiley & Sons, 2000; Synthesis of Peptides and Peptidomimetics (M. Goodman, Editor-in-chief, A. Felix, L. Moroder, C. Tmiolo Eds), Thieme, 2002; N. L. Benoiton, Chemistry of Peptide Synthesis, CRC Press, 2005; Methods in Molecular Biology, 298, Peptide Synthesis and Applications, (J. Howl Ed) Humana Press, 2005; and Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry, Volume 3, Building Blocks, Catalysts and Coupling Chemistry, (A. B. Hughs, Ed.) Wiley-VCH, 2011.

Các phân tử ghép chứa Protein EETI-II không tồn tại tự nhiên

CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) cũng có thể được cải biến nếu thuận lợi theo cách để tạo thành phân tử ghép chứa CKP không tồn tại tự nhiên được dung hợp (ví dụ, được dung hợp tái tổ hợp) với cái khác, polypeptit khác loại hoặc trình tự axit amin. Theo các phương án nhất định, phân tử ghép gồm thể dung hợp của CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) với kháng thể để tạo thành, ví dụ, phân tử hóa trị hai hoặc phân tử hóa trị ba.

Theo các phương án nhất định, phân tử ghép gồm thể dung hợp của CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) với nhóm thứ hai (như vùng tải nạp protein) mà nhắm đích vào phân tử ghép để phân phối đến các mô khác nhau, hoặc, ví dụ, qua hàng rào máu não, bằng cách sử dụng, ví dụ, vùng tải nạp protein của protein TAT của virut suy giảm miễn dịch người (Schwarze *et al.,* 1999, *Science* 285: 1569-72).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên được đề xuất ở đây có thể được sử dụng ở dạng đặc hiệu kép hoặc đặc hiệu bội (đối với các phối tử đích khác nhau hoặc các epitop khác nhau trên cùng một phối tử đích) ở dạng multime. Ví dụ, CKP không tồn tại tự nhiên đặc hiệu kép dime có một cấu trúc dưới phân tử với tính đặc hiệu đối với protein hoặc epitop đích thứ nhất và cấu trúc dưới phân tử thứ hai với tính đặc hiệu đối với protein hoặc epitop đích thứ hai. Cấu trúc dưới phân tử của protein CKP không tồn tại tự nhiên có thể được nối ở các dạng cấu hình khác nhau mà có thể làm tăng hóa trị và do đó ái lực gắn kết với phối tử đích.

Theo các phương án nhất định, phân tử ghép được đề xuất ở đây gồm hai hoặc nhiều (như ba, bốn, năm, sáu, bảy, tám, chín, mười, hoặc nhiều hơn mười) protein CKP không tồn tại tự nhiên. Theo các phương án nhất định, axit nucleic có thể được sắp đặt để mã hóa hai hoặc nhiều bản sao của CKP không tồn tại tự nhiên đơn, mà các bản sao được sao chép và dịch mã nối tiếp để tạo thành multime được liên kết cộng hóa trị của các cấu trúc dưới phân tử giống nhau. Theo các phương án nhất định, axit nucleic có thể được sắp đặt để mã hóa hai hoặc nhiều CKP không tồn tại tự nhiên khác nhau, mà các bản sao được sao chép và dịch mã nối tiếp để tạo thành multime được liên kết cộng hóa trị của các cấu trúc dưới phân tử khác nhau mà gắn kết, ví dụ, các epitop khác nhau của phối tử đích đơn, hoặc, ví dụ, các phối tử đích khác nhau.

Theo một phương án khác, phân tử ghép như vậy gồm thể dung hợp của CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) với polypeptit đuôi mà tạo thành một epitop mà kháng thể kháng đuôi có thể được gắn kết chọn lọc. Đuôi epitop thường được đặt ở đầu tận cùng amino hoặc carboxyl của CKP không tồn tại tự nhiên. Sự có mặt của các dạng được đuôi epitop của protein CKP không tồn tại tự nhiên có thể được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể kháng polypeptit đuôi. Tương tự, việc tạo ra đuôi epitop làm cho CKP không tồn tại tự nhiên được tinh chế dễ dàng bằng sự tinh chế ái lực bằng cách sử dụng kháng thể kháng đuôi hoặc loại khác của nền ái lực mà gắn kết với đuôi epitop. Các polypeptit đuôi khác nhau và các kháng thể tương ứng của chúng là đã biết trong lĩnh vực này. Các ví dụ bao gồm đuôi poly-histidin (poly-His) hoặc poly-histidin-glyxin (poly-His-Gly); polypeptit đuôi flu HA và kháng thể 12CA5 của nó (Field *et al.* (1988) *Mol. Cell. Biol.* 8, 2159-2165); đuôi c-myc và các kháng thể 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 và 9E10 (Evan *et al.* (1985) *Mol. Cell. Biol.* 5, 3610-3616]; và

đuôi glycoprotein D (gD) của virut Herpes Simplex và kháng thể của nó (Paborsky *et al.* (1990) *Protein Eng.*, 3, 547-553). Các polypeptit đuôi khác bao gồm Flag-peptit (Hopp *et al.* (1988) *BioTechnology*, 6,1204-1210); peptit epitop KT3 (Martin *et al.* (1992) *Science, 255*, 192-194]; peptit epitop α-tubulin (Skinner *et al.* (1991) *J. Biol. Chem.* 266, 15163-15166); và đuôi peptit protein 10 gen T7 (Lutz-Freyermuth *et al.* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 6393-6397].

Theo các phương án nhất định, phân tử ghép có thể gồm thể dung hợp của protein CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) với globulin miễn dịch hoặc vùng cụ thể của globulin miễn dịch. Đối với dạng hóa trị hai của phân tử ghép (ví dụ, "kháng thể bám dính miễn dịch"), thể dung hợp này có thể là đối với vùng Fc của phân tử IgG. Thể dung hợp Ig được đề xuất ở đây bao gồm polypeptit mà gồm khoảng hoặc chỉ các gốc 94-243, các gốc 33-53 hoặc các gốc 33-52 của người thay cho ít nhất một vùng biến đổi trong phân tử Ig. Theo một phương án được đặc biệt ưu tiên, thể dung hợp globulin miễn dịch bao gồm gốc khớp, CH2 và CH3, hoặc gốc khớp, CH1, các vùng CH2 và CH3 của phân tử IgG1. Để tạo ra thể dung hợp globulin miễn dịch, cũng xem, Patent Mỹ số 5,428,130 cấp ngày 27 tháng 6 năm 1995. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) được dung hợp, ví dụ, ở đầu tận cùng N hoặc C, với vùng không đổi của IgG (Fc). Theo các phương án nhất định, phân tử dung hợp CKP không tồn tại tự nhiên/Fc hoạt hóa thành phần bổ thể của sự đáp ứng miễn dịch. Theo các phương án nhất định, protein dung hợp CKP không tồn tại tự nhiên/Fc làm tăng giá trị điều trị của CKP không tồn tại tự nhiên. Theo các phương án nhất định, protein CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) được dung hợp (như dung hợp tái tổ hợp), ví dụ, ở đầu tận cùng N hoặc C, với protein bổ thể, như C1q. Các công bố khác nhau mô tả các phương pháp thu được protein không tồn tại tự nhiên mà có chu kỳ bán rã được cải biến bằng cách đưa polypeptit gắn kết với FcRn vào các phân tử (WO 1997/43316, US 5869046, US 5747035, WO 1996/32478, WO 1991/14438) hoặc bằng cách dung hợp các protein với các kháng thể mà có ái lực gắn kết FcRn được bảo toàn nhưng các ái lực đối với các thụ thể Fc khác đã được làm giảm đáng kể (WO 1999/43713) hoặc dung hợp với các vùng

gắn kết FcRn của các kháng thể (WO 2000/09560, US 4703039). Các kỹ thuật và phương pháp cụ thể làm tăng chu kỳ bán rã của các phân tử có hoạt tính sinh lý học (ví dụ, CKP không tồn tại tự nhiên) có thể được thấy trong US 7083784. Theo các phương án nhất định, protein CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) được dung hợp với vùng Fc từ IgG mà gồm các đột biến gốc axit amin (như được liệt kê bởi chỉ số EU trong Kabat): M252Y/S254T/T256E hoặc H433K/N434F/Y436H.

Theo các phương án nhất định, protein CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) được dung hợp với các phân tử làm tăng hoặc kéo dài chu kỳ bán rã *in vivo* hoặc huyết thanh. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) được dung hợp với albumin, như albumin huyết thanh người (human serum albumin: HSA), polyetylen glycol (PEG), polysacarit, các phân tử globulin miễn dịch (IgG), bổ thể, hemoglobin, peptit gắn kết, lipoprotein hoặc các yếu tố khác để làm tăng chu kỳ bán rã của nó trong dòng máu và/hoặc sự thấm mô của nó.

Các phân tử ghép khác chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 có thể được tạo ra nhờ các kỹ thuật sắp xếp lại gen, sắp xếp lại kiểu, sắp xếp lại exon, và/hoặc sắp xếp lại codon (còn được gọi chung là "sắp xếp lại ADN"). Sắp xếp lại ADN có thể được sử dụng để thay đổi các hoạt tính của CKP không tồn tại tự nhiên (ví dụ, CKP không tồn tại tự nhiên với các ái lực cao hơn và tỷ lệ tách thấp hơn). Nói chung, xem, US 5605793, US5811238, US 5830721, US 5834252, US 5837458, Patten *et al.* (1997) *Curr. Opinion Biotechnol.* 8, 724-33; Harayama (1998) *Trends Biotechnol.* 16, 76-82; Hansson, *et al.*, (1999) *J. Mol. Biol.* 287, 265-76; and Lorenzo and Blasco, (1998) *Biotechniques* 24, 308-313.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được đề xuất ở đây được thay đổi bằng cách xử lý đột biến ngẫu nhiên bằng PCR dễ bị lỗi, chèn nucleotit ngẫu nhiên hoặc các phương pháp khác trước khi tái tổ hợp. Một hoặc nhiều phần của polynucleotide mã hóa khung mà gắn kết với đích đặc hiệu có thể được tái tổ hợp với một hoặc nhiều thành phần, kiểu, nhóm, phần, vùng, đoạn, v.v. của một hoặc nhiều phân tử khác loại.

Thể dung hợp bất kỳ trong số các thể dung hợp này có thể được tạo thành bằng các kỹ thuật chuẩn, ví dụ, bằng cách biểu hiện protein dung hợp từ gen dung hợp tái tổ hợp được tạo ra bằng cách sử dụng các trình tự gen có sẵn chung, hoặc bằng cách tổng hợp hóa học.

Thể tiếp hợp chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6)

Được đề xuất ở đây là thể tiếp hợp miễn dịch chứa CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) được tiếp hợp với chất độc tế bào như chất hóa trị liệu, chất độc (ví dụ, chất độc có hoạt tính enzym có nguồn gốc vi khuẩn, nấm, thực vật, hoặc động vật, hoặc các đoạn của chúng), hoặc chất đồng vị phóng xạ (tức là, thể tiếp hợp phóng xạ).

Chất độc có hoạt tính enzym và các đoạn của chúng mà có thể được sử dụng bao gồm bệnh bạch hầu chuỗi A, các đoạn có hoạt tính không gắn kết của chất độc bệnh bạch hầu, exotoxin chuỗi A (từ *Pseudomonas aeruginosa),* ricin chuỗi A, abrin chuỗi A, modeccin chuỗi A, alpha-sarcin, protein *Aleurites fordii*, protein dianthin, protein *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII, và PAP-S), chất ức chế *Momordica charantia*, curcin, crotin, chất ức chế *Saponaria officinalis*, gelonin, mitogellin, restrictocin, phenomycin, enomycin, và tricothecene. Các chất độc khác bao gồm maytansine và maytansinoid, calicheamicin và các chất độc tế bào khác. Các nuclit phóng xạ là có sẵn để tạo ra CKP không tồn tại tự nhiên được tiếp hợp phóng xạ. Các ví dụ bao gồm ^{212}Bi, ^{131}I, ^{131}In, ^{90}Y, và ^{186}Re.

Thể tiếp hợp của CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) và, ví dụ, chất độc tế bào, được tạo ra bằng cách sử dụng các chất nối protein hai chức như N-sucxinimidyl-3-(2-pyridyldithiol) propionat (SPDP), iminothiolan (IT), các dẫn xuất hai chức của imidoeste (như dimetyl adipimidat HCl), các este hoạt tính (như disucxinimidyl suberat), aldehyt (như glutaraldehyt), các hợp chất bis-azido (như bis (*p*-azidobenzoyl) hexandiamin), các dẫn xuất bisdiazonium (như bis-(*p*-diazoniumbenzoyl)-etylendiamin), diisoxyanat (như tolyen 2,6-diisoxyanat), và các hợp chất bis-flo hoạt tính (như 1,5-diflo-2,4-dinitrobenzen). Ví dụ, chất độc miễn dịch ricin

có thể được điều chế như được mô tả trong Vitetta *et al., Science,* 238: 1098 (1987). Axit 1-isothioxyanatobenzyl-3-metyldietylen triaminpentaaxetic (MX-DTPA) được đánh dấu bằng cacbon-14 là chất chelat hóa làm ví dụ đối với sự tiếp hợp của nuclit phóng xạ với CKP không tồn tại tự nhiên được đề xuất ở đây. Xem, WO94/11026.

Theo một phương án khác, CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) có thể được tiếp hợp với "thụ thể" (như streptavidin) để sử dụng trong mắt "nhắm đích sơ bộ" trong đó thể tiếp hợp protein khung EETI-II không tồn tại tự nhiên-thụ thể được sử dụng cho mắt bệnh nhân, tiếp đó loại bỏ thể tiếp hợp không gắn kết khỏi quá trình tuần hoàn bằng cách sử dụng chất lọc trong và sau đó sử dụng "phối tử" (ví dụ, avidin) mà được liên hợp với chất độc tế bào (ví dụ, nuclit phóng xạ) hoặc chất điều trị.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên được đề xuất ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) có thể được sử dụng ở dạng đặc hiệu kép hoặc đặc hiệu bội (đối với các phối tử đích khác nhau hoặc epitop khác nhau trên cùng một phối tử đích) ở dạng multime. Sự gắn kết có thể là cộng hóa trị hoặc không phải cộng hóa trị. Ví dụ, CKP không tồn tại tự nhiên đặc hiệu kép dime có một cấu trúc dưới phân tử với tính đặc hiệu đối với protein hoặc epitop đích thứ nhất và cấu trúc dưới phân tử thứ hai với tính đặc hiệu đối với protein hoặc epitop đích thứ hai. Cấu trúc dưới phân tử của CKP không tồn tại tự nhiên có thể được nối, ví dụ, bằng cách tiếp hợp, trong các cấu hình khác nhau mà có thể làm tăng hóa trị và ái lực gắn kết với phối tử đích hoặc để gắn kết nhiều phối tử đích.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên được đề xuất ở đây được sắp xếp để tạo thành các nhóm phản ứng để tiếp hợp. Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng N và/hoặc đầu tận cùng C cũng có thể đáp ứng để tạo thành các nhóm phản ứng để tiếp hợp. Theo các phương án nhất định, đầu tận cùng N được liên hợp với một nhóm (như, nhưng không giới hạn ở PEG) trong khi đầu tận cùng C được liên hợp với nhóm khác (như, nhưng không giới hạn ở biotin), hoặc ngược lại.

Được đề xuất là CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) được tiếp hợp với một hoặc nhiều nhóm, bao gồm nhưng không giới hạn ở, peptit,

polypeptit, protein, protein dung hợp, phân tử axit nucleic, các phân tử nhỏ, chất bắt chước, dược chất tổng hợp, các phân tử vô cơ, và các phân tử hữu cơ. Cũng được đề xuất là việc sử dụng CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) được tiếp hợp hóa học (bao gồm cả thể tiếp hợp cộng hóa trị và không cộng hóa trị) với protein hoặc polypeptit khác loại (hoặc đoạn của chúng, với polypeptit có ít nhất 10, ít nhất 20, ít nhất 30, ít nhất 40, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90 hoặc ít nhất 100 axit amin). Thể dung hợp về cơ bản không cần phải là trực tiếp, nhưng có thể xảy ra thông qua các trình tự liên kết được mô tả ở đây.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6), hoặc chất tương tự hoặc dẫn xuất của chúng có thể được tiếp hợp với chất chẩn đoán hoặc chất phát hiện. Thể tiếp hợp CKP không tồn tại tự nhiên có thể là hữu ích để giám sát hoặc dự đoán sự phát triển hoặc tiến triển của bệnh ở dạng một phần của quy trình thử nghiệm lâm sàng, như xác định hiệu quả của liệu pháp điều trị cụ thể. Việc chẩn đoán và phát hiện này có thể được thực hiện bằng cách nối CKP không tồn tại tự nhiên với chất phát hiện bao gồm, nhưng không giới hạn ở các enzym khác nhau, như nhưng không giới hạn ở peroxidaza cải ngựa, kiềm phosphataza, beta-galactosidaza, hoặc axetylcholinesteraza; các nhóm prostetic, như nhưng không giới hạn ở streptavidinlbiotin và avidin/biotin; chất huỳnh quang, như nhưng không giới hạn ở, umbelliferon, fluorescein, fluorescein isothioxynat, rodamin, diclotriazinylamin fluorescein, dansyl clorua hoặc phycoerythrin; chất phát quang, như, nhưng không giới hạn ở, luminol; chất phát quang sinh học, như nhưng không giới hạn ở, luciferaza, luciferin, và aequorin; chất có hoạt tính phóng xạ, như nhưng không giới hạn ở iot (^{131}I, ^{125}I, ^{123}I, ^{121}I), cacbon (^{14}C), lưu huỳnh (^{35}S), triti (^{3}H), indi (^{115}In, ^{113}In, ^{112}In, ^{111}In,), và tecneti (^{99}Tc), tali (^{201}Ti), gali (^{68}Ga, ^{67}Ga), paladi (^{103}Pd), molypđen (^{99}Mo), xenon (^{133}Xe), flo (^{18}F), ^{153}Sm, ^{177}Lu, ^{159}Gd, ^{149}Pm, ^{140}La, ^{175}Yb, ^{166}Ho, ^{90}Y, ^{47}Sc , ^{186}Re, ^{188}Re, ^{142}Pr , ^{105}Rh , ^{97}Ru, ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn, ^{85}Sr, ^{32}P , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se, ^{113}Sn, và ^{117}Tn; các kim loại phát positron bằng cách sử dụng các phương pháp chụp cắt lớp phát positron khác nhau, các ion kim loại thuận từ không có hoạt tính phóng xạ, và các phân tử mà được đánh dấu phóng xạ hoặc được tiếp hợp với các đồng vị phóng xạ cụ thể.

Cũng được đề xuất là CKP không tồn tại tự nhiên (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) được tiếp hợp với nhóm điều trị. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên có thể được tiếp hợp với nhóm điều trị như độc tố tế bào, ví dụ, chất kìm hãm tế bào hoặc diệt tế bào, chất điều trị hoặc ion kim loại có hoạt tính phóng xạ, ví dụ, chất phát xạ alpha. Chất kìm hãm tế bào hoặc chất độc tế bào bao gồm chất bất kỳ mà gây bất lợi cho tế bào.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6 được liên hợp với các nhóm điều trị như ion kim loại có hoạt tính phóng xạ, như chất phát xạ alpha như ^{213}Bi hoặc chất tạo chelat vòng lớn hữu ích để tiếp hợp các ion kim loại phóng xạ, bao gồm nhưng không giới hạn ở, ^{131}In, ^{131}Lu, ^{131}Y, ^{131}Ho, ^{131}Sm, với polypeptit. Theo các phương án nhất định, chất tạo chelat vòng lớn là axit 1, 4, 7, 10- tetraazaxyclododecan-N,N',N",N"'-tetra-axetic (DOTA) mà có thể được gắn với CKP không tồn tại tự nhiên bằng phân tử liên kết. Các phân tử liên kết này đã biết trong lĩnh vực này và được mô tả trong, ví dụ, Denardo *et al.* (1998) *Clin Cancer Res*. 4, 2483-90; Peterson *et al.* (1999) *Bioconjug. Chem*. 10, 553-557; and Zimmerman *et al.* (1999) *Nucl. Med. Biol*. 26, 943-50.

Các kỹ thuật để tiếp hợp các nhóm điều trị với các kháng thể là đã biết rõ và có thể được gắn với CKP không tự nhiên được mô tả ở đây, xem, ví dụ, Amon *et al.*, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy," trong Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Reisfeld *et al.* (eds.), trang 243-56. (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery", trong Controlled Drug Delivery (xuất bản lần thứ 2), Robinson *et al.* (eds.), trang 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", trong Monoclonal Antibodies 84: Biological and Clinical Applications, Pinchera *et al.* (eds.), trang 475-506 (1985); "Analysis, Results, and Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radio labeled Antibody In Cancer Therapy", trong Monoclonal Antibodies For Cancer Detection and Therapy, Baldwin *et al.* (eds.), trang 303-16 (Academic Press 1985), và Thorpe *et al.*, 1982, Immunol. Rev. 62:119-58. Tương tự, các cách tiếp cận tương tự có thể được làm cho thích hợp để sử dụng với CKP không tồn tại tự nhiên được đề xuất ở đây.

Nhóm hoặc dược chất điều trị được tiếp hợp với CKP không tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) nên được chọn để đạt được (các) tác dụng điều trị hoặc dự phòng mong muốn đối với rối loạn cụ thể ở đối tượng. Thầy thuốc lâm sàng hoặc nhân viên y khoa cần xem xét các vấn đề sau khi quyết định mà dựa vào đó nhóm điều trị hoặc dược chất tiếp hợp với khung: bản chất của bệnh, mức độ nặng của bệnh, và tình trạng của đối tượng.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) còn có thể được gắn với chất mang rắn, mà đặc biệt hữu ích cho thử nghiệm miễn dịch hoặc tinh chế kháng nguyên đích. Các chất mang rắn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, thủy tinh, xenluloza, polyacrylamit, nylon, polystyren, polyvinyl clorua hoặc polypropylen.

Sự cải biến cộng hóa trị

Sự cải biến cộng hóa trị của CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) cũng được dự định. Một loại trong số cải biến cộng hóa trị bao gồm cho các gốc axit amin của CKP không tồn tại tự nhiên được nhắm đích phản ứng với chất tạo dẫn xuất hữu cơ mà có khả năng phản ứng với các mạch bên được chọn hoặc các gốc đầu tận cùng N hoặc C của CKP không tồn tại tự nhiên. Việc tạo dẫn xuất với các chất hai chức là hữu ích, ví dụ, để liên kết ngang CKP không tồn tại tự nhiên với chất nền mang hoặc chất hoạt động bề mặt không tan trong nước để sử dụng trong phương pháp này để tinh chế phối tử đích, và ngược lại. Các chất liên kết ngang thường được sử dụng bao gồm, ví dụ, 1,1-bis(diazoaxetyl)-2-phenyletan, glutaraldehyt, N-hydroxysucxinimit este, ví dụ, este với axit 4-azidosalixylic, imidoeste đồng hai chức, bao gồm disucxinimidyl este như 3,3'-dithiobis(sucxinimidyl-propionat), maleimit hai chức như bis-N-maleimido-1,8-octan và các chất như metyl-3-[(*p*-azidophenyl)-dithio]propioimidat.

Các cải biến khác bao gồm khử amit của các gốc glutaminyl và asparaginyl lần lượt thành các gốc glutamyl và aspartyl tương ứng, hydroxyl hóa prolin và lysin, phosphoryl hoác các nhóm hydroxyl của các gốc seryl hoặc threonyl, metyl hóa nhóm

α-amino của các mạch bên lysin, arginin, và histidin (T.E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W.H. Freeman & Co., San Francisco, trang 79-86 (1983)), axetyl hóa amin đầu tận cùng N, và amit hóa nhóm carboxyl đầu tận cùng C bất kỳ.

Kiểu khác của cải biến cộng hóa trị CKP không tồn tại tự nhiên bao gồm liên kết CKP không tồn tại tự nhiên với một trong các polyme không có protein, ví dụ, polyetylen glycol (PEG), polypropylen glycol, hoặc polyoxyalkylen, theo cách được nêu trong US 4640835, US 4496689, US 4301144, US 4670417, US 4791192 hoặc US 4179337.

Thuật ngữ "polyetylen glycol" hoặc "PEG" nghĩa là hợp chất polyetylen glycol hoặc dẫn xuất của chúng, có hoặc không có chất nối, nhóm nối hoặc hoạt hóa (ví dụ, với nhóm thiol, triflat, tresylat, azirdin, oxiran, N-hydroxysucxinimit hoặc maleimit). Thuật ngữ "PEG" được dự định để chỉ polyetylen glycol có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 500 đến 150.000 Da, bao gồm các chất tương tự của chúng, trong đó ví dụ, nhóm OR đầu tận cùng đã được thế bằng nhóm metoxy (gọi là mPEG).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) được tạo dẫn xuất với polyetylen glycol (PEG). PEG là polyme thẳng, không tan trong nước chứa các đơn vị lặp lại của etylen oxit với hai nhóm hydroxyl đầu tận cùng. PEG được phân loại bởi trọng lượng phân tử của chúng mà thường nằm trong khoảng từ 500 dalton đến 40.000 dalton. Theo một phương án hiện được ưu tiên, PEG được sử dụng có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 5.000 dalton đến 20.000 dalton. PEG được nối với CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây có thể có nhánh hoặc không có nhánh (ví dụ, Monfardini, C. *et al.* 1995 *Bioconjugate Chem* 6:62-69). PEG có bán sẵn trên thị trường từ Nektar Inc., Sigma Chemical Co. và các công ty khác. Các PEG như vậy bao gồm, nhưng không giới hạn ở, monometoxypolyetylen glycol (MePEG-OH), monometoxypolyetylen glycol-sucxinat (MePEG-S), monometoxypolyetylen glycol-sucxinimidyl sucxinat (MePEG-S-NHS), monometoxypolyetylen glycol-amin (MePEG-NH2), monometoxypolyetylen glycol-tresylat (MePEG-TRES), và monometoxypolyetylen glycol-imidazolyl-carbonyl (MePEG-IM).

Theo các phương án nhất định, polyme ưa nước mà được sử dụng, ví dụ, PEG, bị chặn ở một đầu bằng nhóm không phản ứng như nhóm metoxy hoặc etoxy. Sau đó, polyme được hoạt hóa ở đầu khác bằng phản ứng với chất hoạt hóa thích hợp, như

halogenua xyanuric (ví dụ, clorua, bromua hoặc florua xyanuric), diimadozle, chất phản ứng anhydrit (ví dụ, anhydrit dihalosucxinic, như anhydrit dibromosucxinic), axyl azit, *p*-diazoiumbenzyl ete, 3-(*p*-diazoniumphenoxy)-2-hydroxypropylete) và tương tự. Sau đó, polyme được hoạt hóa được cho phản ứng với CKP không tồn tại tự nhiên ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) để tạo thành CKP không tồn tại tự nhiên được tạo dẫn xuất với polyme. Theo cách khác, nhóm chức trong CKP không tồn tại tự nhiên được đề xuất ở đây có thể được hoạt hóa để phản ứng với polyme, hoặc hai nhóm có thể được nối trong phản ứng nối được dự tính bằng cách sử dụng phương pháp nối đã biết. Sẽ dễ hiểu rằng CKP không tồn tại tự nhiên được đề xuất ở đây có thể được tạo dẫn xuất với PEG bằng cách sử dụng vô số sơ đồ phản ứng khác đã biết và được sử dụng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Liposom

CKP không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây (như CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A hoặc CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với LRP6) cũng có thể được tạo ra ở dạng liposom. Liposom chứa khung protein EETI-II không tồn tại tự nhiên được mô tả ở đây có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, như được mô tả trong Epstein *et al., Proc Natl Acad Sci USA,* 82: 3688 (1985); Hwang *et al., Proc Natl Acad Sci USA,* 77: 4030 (1980); và Patent Mỹ số 4,485,045 và 4,544,545. Liposom với thời gian tuần hoàn tăng được mô tả trong Patent Mỹ số 5,013,556.

Liposom đặc biệt hữu ích có thể được tạo ra bằng phương pháp làm bay hơi pha đảo với chế phẩm lipit chứa phosphatidylcholin, cholesterol, và phosphatidyletanolamin được dẫn xuất từ PEG (PEG-PE). Liposom được ép qua bộ lọc có cỡ lỗ xác định để tạo thành liposom với kích thước mong muốn. Chất điều trị thứ hai tùy ý cũng có trong liposom. Xem, Gabizon *et al., J. National Cancer Inst.*, 81(19): 1484 (1989). Các chế phẩm dược phẩm hoặc dạng bào chế chứa Cystin Knot Peptit (CKP) mà gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc máu A của người (VEGF-A).

Theo các phương án nhất định, được đề xuất ở đây là dược phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A và tá dược dược dụng. Theo các phương án nhất định, dược phẩm này còn có thể chứa, chất đệm, chất mang, chất ổn định, chất bảo

quản và/hoặc chất độn, để làm cho dược phẩm thích hợp để sử dụng trong mắt cho bệnh nhân để đạt được tác dụng hoặc kết quả mong muốn. Theo các phương án nhất định, dược phẩm chứa một hoặc nhiều chất tăng cường tính thấm mà cho phép CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A thấm vào giác mạc. Các ví dụ về chất tăng cường tính thấm này bao gồm, ví dụ, chất hoạt động bề mặt, axit mật, chất tạo chelat, chất bảo quản, xyclodextrin (tức là, oligonucleotit hình trụ với bề mặt bên ngoài ưa nước và bề mặt bên trong ưa chất béo mà tạo thành phức chất với dược chất ưa chất béo), v.v.. Chất tăng cường tính thấm làm tăng tính ổn định hóa học và độ sinh khả dụng và làm giảm kích ứng tại chỗ. Theo các phương án nhất định, dược phẩm được đề xuất ở đây còn chứa các chất làm tăng mức độ hấp thụ và phân bố CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A trong các khoang mắt khác nhau. Theo các phương án nhất định, dược phẩm được đề xuất ở đây chứa axit polyacrylic được liên kết ngang, mà có thể làm tăng độ sinh khả dụng trong mắt vì đặc tính kết dính niêm mạc của nó. Theo các phương án nhất định, dược phẩm được đề xuất ở đây chứa polyme kết dính sinh học.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm được đề xuất ở đây được bào chế ở dạng hệ tạo gel tại chỗ, ví dụ, chất lỏng nền polyme nhớt mà có sự chuyển pha dung dịch-thành-gel trên bề mặt mắt do sự thay đổi về thông số lý hóa cụ thể (độ bền của ion, nhiệt độ, pH, hoặc sự trao đổi dung môi) khi dược phẩm đi vào tiếp xúc với dịch nước mắt. Theo các phương án nhất định, dược phẩm được đề xuất ở đây được bào chế ở dạng thuốc xịt mắt. Theo các phương án nhất định, dược phẩm được bào chế ở dạng liposom. Theo các phương án nhất định, dược phẩm được đề xuất ở đây được bào chế ở dạng niosom (tức là, nang dựa trên nền chất hoạt động bề mặt không ion chứa, ví dụ, cholesterol làm tá dược). Theo các phương án nhất định, dược phẩm được đề xuất ở đây được bào chế ở dạng nang thuốc lưỡng tính (tức là, nang được tạo ra từ dược chất lưỡng tính). Theo các phương án nhất định, dược phẩm được đề xuất ở đây được bào chế ở dạng vi nhũ tương. Chi tiết thêm về các dược phẩm cho mắt khác nhau được đề xuất trong, ví dụ, Gaikwad et al. (2013) *Indo Amer J Pharm Res.* 3, 3216-3232; Achouri et al. (2012) *Drug Dev Indust Pharm.* 39, 1599-1617; Lu (2010) *Recent Pat Drug Deliv Formul.* 4, 49-57; Baranowski et al. (2014) *Sci World J.* doi.org/10.1155/2014/861904; Lang (1995) *Adv Drug Deliv Rev.* 16, 39-43; Short (2008) *Toxicologic Path.* 36, 49-62; và các tài liệu khác.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây là ổn định ở nhiệt độ trong phòng (như ở khoảng 20-25°C) trong khoảng 0,5 tuần, khoảng 1,0 tuần, khoảng 1,5 tuần, khoảng 2,0 tuần, khoảng 2,5 tuần, 3,5 tuần, khoảng 4,0 tuần, khoảng 1 tháng, khoảng 2 tháng khoảng 3 tháng, khoảng 4 tháng khoảng 5 tháng, khoảng 6 tháng, hoặc lâu hơn 6 tháng, bao gồm khoảng bất kỳ ở giữa các giá trị này. Theo các phương án nhất định, dược phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây là ổn định dưới các điều kiện được tăng tốc (như bảo quản ở khoảng 37°C) trong khoảng 0,5 tuần, khoảng 1,0 tuần, khoảng 1,5 tuần, khoảng 2,0 tuần, khoảng 2,5 tuần, 3,5 tuần, khoảng 4,0 tuần, khoảng 1 tháng, khoảng 2 tháng khoảng 3 tháng, khoảng 4 tháng khoảng 5 tháng, khoảng 6 tháng, hoặc lâu hơn 6 tháng, bao gồm khoảng bất kỳ ở giữa các giá trị này.

Phương pháp điều trị bằng cách sử dụng Xystin knot peptit không tồn tại tự nhiên (CKP) mà gắn kết với Yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A)

Yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu (VEGF-A), glycoprotein dime khoảng 40 kDa, là tác nhân gây phân bào tế bào nội mô hữu hiệu mà kích thích quá trình tăng sinh, di trú và sự tạo thành ống dẫn đến sự phát triển tạo mạch của mạch máu mới và tính thấm mạch tăng. Điều kiện oxy thấp trong võng mạc hoặc giác mạc gây ra sự biểu hiện yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu (VEGF-A), và sự phát triển không bình thường (như thừa hoặc không thích hợp khác) của các mạch máu rò góp phần vào bệnh lý của một vài bệnh suy nhược ở mắt bao gồm, ví dụ, mù do đái tháo đường, bệnh võng mạc, bệnh võng mạc đái tháo đường sơ cấp, thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD), bệnh võng mạc đái tháo đường tăng sinh (PDR), bệnh võng mạc ở trẻ sinh non (ROP), tân mạch hắc mạc (CNV), phù hoàng điểm do đái tháo đường, cận thị bệnh lý, bệnh von Rippel-Lindau, nhiễm nấm histoplasma ở mắt, tắc tĩnh mạch võng mạc (cả tắc tĩnh mạch võng mạc nhánh (BRVO) và tắc tĩnh mạch võng mạc trung tâm (CRVO), tân mạch giác mạc, tân mạch võng mạc và chứng đỏ da. Sự tạo thành mạch máu mới do VEGF-A gây ra là có hại, và tân mạch võng mạc, tân mạch gian mô liên kết hoặc tân mạch giác mạc cuối cùng có thể dẫn đến sự giảm thị lực.

Theo các phương án nhất định, được đề xuất ở đây là phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn về mắt ở đối tượng bao gồm sử dụng cho đối tượng lượng hữu hiệu của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây hoặc chế phẩm (như

dược phẩm) chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây. Theo một phương án nhất định, sáng chế đề xuất chế phẩm (như dược phẩm) chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây dùng để điều trị bệnh hoặc rối loạn về mắt ở đối tượng. Theo các phương án nhất định, được đề xuất là việc sử dụng CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh hoặc rối loạn về mắt ở đối tượng.

Theo các phương án nhất định, đối tượng được điều trị là động vật có vú (ví dụ, người, động vật linh trưởng không phải người, chuột, chuột nhắt, bò, ngựa, lợn, cừu, dê, chó, mèo, v.v.). Theo các phương án nhất định, đối tượng này là người. Theo các phương án nhất định, đối tượng này là bệnh nhân lâm sàng, người tình nguyện thử nghiệm lâm sàng, động vật thử nghiệm, v.v.. Theo các phương án nhất định, đối tượng này được nghi ngờ có hoặc có nguy cơ mắc bệnh hoặc rối loạn về mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch không bình thường và/hoặc tính thấm mạch không bình thường (như được mô tả ở đây). Theo các phương án nhất định, đối tượng đã được chẩn đoán mắc bệnh hoặc rối loạn về mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch không bình thường và/hoặc tính thấm mạch không bình thường (như được mô tả ở đây).

Theo các phương án nhất định, bệnh hoặc rối loạn về mắt là bệnh tăng sinh mạch máu ở mắt, như bệnh tăng sinh mạch máu ở mắt được chọn từ nhóm gồm mù do đái tháo đường, bệnh võng mạc, bệnh võng mạc đái tháo đường sơ cấp, thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD), bệnh võng mạc đái tháo đường tăng sinh (PDR), bệnh võng mạc ở trẻ sinh non (ROP), tân mạch hắc mạc (CNV), phù hoàng điểm do đái tháo đường, cận thị bệnh lý, bệnh von Rippel-Lindau, nhiễm nấm histoplasma ở mắt, tắc tĩnh mạch võng mạc (cả tắc tĩnh mạch võng mạc nhánh (BRVO) và tắc tĩnh mạch võng mạc trung tâm (CRVO), tân mạch giác mạc, tân mạch võng mạc và chứng đỏ da. Theo các phương án nhất định, tân mạch giác mạc dẫn đến nhiễm trùng mắt, viêm ở mắt, chấn thương mắt (bao gồm bỏng hóa chất), hoặc suy giảm hàng rào tế bào thân rìa giác mạc. Theo các phương án nhất định, tân mạch giác mạc do viêm giác mạc ecpet, bệnh mắt hột, hoặc bệnh mù do giun chỉ onchocerca.

Theo các phương án nhất định, lượng hữu hiệu của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên

gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây) được sử dụng trực tiếp cho mắt của đối tượng (như trong dịch kính hoặc tại chỗ), như được mô tả chi tiết hơn nữa ở đây.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được sử dụng kết hợp với chất thứ hai. Đối với bệnh nhân mà ở họ bệnh hoặc rối loạn về mắt được gây ra bởi sự đáp ứng miễn dịch, liệu pháp kết hợp với chất kháng viêm có thể được xem xét. Ví dụ, việc sử dụng kết hợp của steroit và CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây (hoặc chế phẩm chứa CKP không tự nhiên) để làm giảm viêm và ngăn sự tạo thành mạch máu mới, lần lượt, có thể là đặc biệt thuận lợi ở bệnh nhân mắc, ví dụ, tân mạch giác mạc. Các bệnh nhân mà trải qua bệnh hoặc rối loạn về mắt thứ phát do nhiễm vi khuẩn, virut, nấm hoặc acanthamoeba có thể có lợi từ việc sử dụng CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) kết hợp với chất kháng vi sinh vật và tùy ý là chất kháng viêm. Các bệnh nhân có mạch máu cơ chất giác mạc là kết quả của bệnh hoặc rối loạn về mắt là với nguy cơ đáng kể đối với sự loại bỏ miễn dịch sau khi ghép giác mạc. Việc sử dụng CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) trước khi (và tùy ý là sau khi) ghép giác mạc do đó có thể là đặc biệt có lợi cho bệnh nhân có mạch máu cơ chất giác mạc ở dạng làm giảm thành công sự tạo mạch giác mạc sẽ làm giảm nguy cơ thải ghép. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được sử dụng kết hợp với chất chống tạo mạch thứ hai. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được sử dụng kết hợp với chất ức chế metalloproteaza nền (matrix metalloprotease: MMP).

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được sử dụng kết hợp với liệu pháp điều trị thứ hai. Theo các phương án nhất định, liệu pháp điều trị thứ hai là liệu pháp ngưng kết quang học laze (laser photocoagulation therapy: LPT). LPT sử dụng ánh sáng laze để gây ra tổn thương có kiểm soát đối với võng mạc để tạo ra tác dụng điều trị có lợi. Sự bỏng nhẹ của ánh sáng laze có thể làm kín các mạch máu rò, phá hủy các mạch máu không bình thường, làm kín sự rách võng mạc, hoặc phá hủy mô không bình thường ở đằng sau mắt. Liệu pháp này nhanh, không xâm lấn, và thường

không cần gây mê khác với thuốc nhỏ mắt gây tê. Kỹ thuật và công cụ LPT dễ dàng có sẵn đối với bác sĩ khoa mắt (xem Lock *et al.* (2010) *Med J Malaysia* 65:88-94). Chi tiết thêm về LPT có thể được thấy trong, ví dụ, WO 2014/033184.

Theo các phương án nhất định, liệu pháp điều trị thứ hai là liệu pháp quang động (photodynamic therapy: PDT). PDT sử dụng phân tử hoạt hóa ánh sáng để gây ra tổn thương cục bộ với nội mô tân mạch, dẫn đến tắc mạch. Ánh sáng được phân phối đến võng mạc ở dạng đốm tuần hoàn đơn thông qua cáp quang sợi và đèn có khe, bằng cách sử dụng thấu kính phóng đại của mắt thích hợp (điều trị laze). Hợp chất được hoạt hóa ánh sáng được tiêm vào tuần hoàn trước khi điều trị laze, và tổn thương được gây ra bằng hoạt hóa quang học hợp chất trong vùng bị làm đau bởi tân mạch. Một hợp chất hoạt hóa ánh sáng thường được sử dụng là verteporfin (Visudyne®). Verteporfin được vận chuyển trong huyết tương chủ yếu nhờ lipoprotein. Khi verteporfin được hoạt hóa bởi ánh sáng với sự có mặt của oxy, oxy mức đơn có thời gian tồn tại ngắn, phản ứng cao và các gốc oxy phản ứng được tạo ra mà gây tổn thương nội mô xung quanh mạch máu. Nội mô bị tổn thương được biết là giải phóng các yếu tố gây đông máu và hoạt mạch nhờ quá trình lipo-oxygenaza (leukotriene) và xyclooxygenaza (eicosanoid như thromboxan), dẫn đến sự kết tụ tiểu cầu, tạo thành cục fibrin và sự co mạch. Verteporfin xuất hiện có phần ưu tiên tích lũy ở tân hệ mạch. Bước sóng của laze được sử dụng để quang hoạt hợp chất hoạt hóa ánh sáng có thể thay đổi tùy thuộc vào hợp chất hoạt hóa ánh sáng cụ thể được sử dụng. Chi tiết thêm về PDT có thể được thấy trong, ví dụ, WO 2014/033184.

Theo các phương án nhất định, liệu pháp điều trị thứ hai là phép điện nhiệt và đốt, trong đó bình được hút giữ bằng cách sử dụng dòng đông tụ thông qua bộ điện nhiệt đơn cực hoặc bằng cách đốt nhiệt sử dụng kim điện phân được gài vào bình nạp ở rìa.

Sử dụng

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được sử dụng, ví dụ, bằng cách tiêm, ví dụ, tiêm dưới kết mạc, tiêm trong giác mạc, hoặc tiêm trong dịch kính. Việc sử dụng ở dạng chứa nước là thông thường, với thể tích thông thường là 20-150µl, ví dụ 40-60µl, hoặc 50µl. Việc tiêm có thể bằng kim cỡ 30 x 1/2-inso (12,7 mm). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP

không tồn tại tự nhiên) được tạo ra trong ống tiêm vô trùng được nạp trước sẵn sàng để sử dụng. Theo các phương án nhất định, ống tiêm có hàm lượng silicon hoặc không có silicon. Ống tiêm có thể được làm bằng thủy tinh. Việc sử dụng ống tiêm nạp trước để phân phối có ưu điểm là có thể tránh được sự nhiễm tạp dung dịch đối kháng vô trùng trước khi sử dụng. Ống tiêm nạp trước còn giúp thao tác dễ hơn cho bác sĩ nhãn khoa sử dụng. Ví dụ, xem, WO 2014/033184, Fagan et al. (2013) *Clin Exp Ophthalmol.* 41, 500-507; Avery et al. (2014) *Retina.* 34 Suppl 12, S1-S18; và Doshi et al. (2015) *Seminar Ophthalmol.* 26, 104-113 đối với chi tiết thêm về việc sử dụng trong dịch kính.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được sử dụng khu trú, ví dụ, ở dạng thuốc nhỏ mắt. Chi tiết thêm về sự phân phối dược chất khu trú vào mắt được thấy trong, ví dụ, Loftsson et al. (2012) Acta Ophthalmologica. 90, 603-608; Patel et al. (2013) World J. Pharmacol. 2, 47-64; Freeman et al. (2009) Exp Rev Ophthalmol. 4, 59-64; and Boddu et al. (2014) Recent Patents on Drug Delivery and Formulation. 8, 27-36.

Theo các phương án nhất định, dụng cụ dùng trong dịch kính được sử dụng để phân phối liên tục CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) vào mắt. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được sử dụng thông qua vật gài vào mắt (bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ví dụ, Ocusert, Lactiser, dược chất gài hòa tan trong mắt (Soluble Ocular Drug Insert: SODI), đĩa mini, kính áp tròng, màng, mảnh giấy lọc, chất gài giọt nước mắt nhân tạo, và miếng độn collagen). Ví dụ, xem Gaikwad et al. (2013) *Indo Amer J Pharm Res*. 3, 3216-3232). Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được sử dụng ở dạng nền giải phóng chậm, nút/ổ chứa trong mắt, vật cấy vào mắt (như cấy củng mạc hoặc dịch kính). Các hệ phân phối củng mạc và trong dịch kính khác nhau là đã biết trong lĩnh vực này. Các hệ phân phối này thường không thoái biến sinh học, và có thể là có chủ động hoặc bị động. Ví dụ, WO 2010/088548 mô tả hệ phân phối có khối rắn sử dụng sự khuếch tán bị động để phân phối chất điều trị. WO 2002/l00318 mô tả hệ phân phối có khối mềm dẻo mà cho phép sử dụng chủ động thông qua sự chênh lệch áp suất. Theo cách khác, sự phân phối chủ động có thể đạt được bằng bơm thu nhỏ cấy được. Ví dụ về hệ phân phối trong dịch kính sử dụng bơm thu nhỏ để phân phối chất điều trị là Ophthalmic MicroPump

System™ được bán bởi Replenish, Inc. mà có thể được lập trình để phân phối một lượng xác định chất điều trị đối với số lần xác định trước. Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được cho vào đồ chứa giống nang nhỏ (ví dụ, cốc làm bằng chất đàn hồi silicon). Đồ chứa thường được cấy vào mắt phía trên mống mắt. Đồ chứa gồm một lỗ giải phóng. Việc giải phóng CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) có thể được kiểm soát bằng màng đặt giữa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) và lỗ, hoặc bằng một bơm thu nhỏ được nối với đồ chứa. Theo cách khác, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) có thể được kết tủa trong nền giải phóng chậm để ngăn sự khuếch tán nhanh chất đối kháng ra ngoài đồ chứa. Tốt hơn, nếu dụng cụ trong dịch kính được thiết kế để giải phóng CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) với tốc độ ban đầu cao hơn trong tháng thứ nhất. Tốc độ giải phóng giảm dần, ví dụ, trong đợt tháng thứ nhất sau khi cấy, đến tốc độ nhỏ hơn khoảng 50% so với tốc độ ban đầu. Đồ chứa có thể có kích thước đủ để duy trì sự cung cấp CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) kéo dài trong khoảng bốn đến sáu tháng. Vì liều giảm của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) có thể là đủ để điều trị hữu hiệu khi sử dụng liên tục, nên việc cung cấp trong đồ chứa có thể kéo dài trong một năm hoặc lâu hơn, tốt hơn là khoảng hai năm, tốt hơn nữa là khoảng ba năm. Vì chỉ cần một phẫu thuật nhỏ để cấy hệ phân phối và không phải tiêm trong dịch kính, nên có thể tránh được những phiền toái cho bệnh nhân khi tiêm trong dịch kính nhiều lần. Nồng độ trong dịch kính của CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được giảm, và do đó nguy cơ tiềm ẩn về các tác dụng phụ từ CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) đi vào tuần hoàn được giảm.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được sử dụng bằng điện chuyển ion. Điện chuyển ion là kỹ thuật không xâm lấn trong đó dòng điện nhỏ được dùng để làm tăng sự thấm dược chất được ion hóa vào mô (ví dụ, xem, Myles et al. (2005) *Adv Drug Deliv Rev* 57, 2063-79 and Eljarrat-Binstock et al. (2006) *J Controlled Release* 110,

479-89). Dược chất được sử dụng với điện cực mang cùng một điện tích với dược chất, và điện cực nối đất, mà có điện tích trái dấu, được đặt đâu đó trên cơ thể để hoàn thành mạch. Dược chất làm chất dẫn điện của dòng điện qua mô.

Chi tiết thêm về việc sử dụng dược chất cho mắt được đề xuất trong, ví dụ, Kuno et al. (2011) *Polymers* 3, 193-221; Short (2008) *Toxicologic Path.* 36, 49-62; Ghateet al. (2006) *Expert Opin Drug Deliv* 3, 275-87; Davis et al. (2004) *Curr Opin Mol Therap* 6, 195-205; Gaudana et al. (2010) *AAPS J.* 12, 348-360; và các tài liệu khác.

Chế phẩm giải phóng chậm /phân phối tác dụng kéo dài

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được tạo ra ở dạng chế phẩm giải phóng chậm. Chế phẩm giải phóng chậm thường thu được bằng cách trộn chất điều trị với polyme thoái biến sinh học hoặc bao nang nó trong vi hạt.

Chế phẩm giải phóng chậm theo sáng chế thường chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên), chất mang polyme, và chất cải biến giải phóng để cải biến tốc độ giải phóng CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) khỏi chất mang polyme. Bằng cách thay đổi các điều kiện sản xuất chế phẩm phân phối nền polyme, đặc tính động lực giải phóng của chế phẩm thu được có thể được điều chỉnh. Chất mang polyme thường gồm một hoặc nhiều polyme thoái biến sinh học hoặc co-polyme hoặc hỗn hợp của chúng. Ví dụ, chất mang polyme có thể được chọn từ axit poly-lactic (PLA), axit poly-glycolic (PGA), polylactit-co-glycolit (PLGA), polyeste, poly (orthoeste), poly(phosphazin), poly (phosphat este), polycaprolacton, hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo các phương án nhất định, chất mang polyme là PLGA. Chất cải biến giải phóng thường là rượu béo mạch dài, tốt hơn là chứa từ 10 đến 40 nguyên tử cacbon. Chất cải biến giải phóng thường được sử dụng bao gồm rượu capryl, rượu pelargonic, rượu capric, rượu lauryl, rượu myristyl, rượu xetyl, rượu palmitoleyl, rượu stearyl, rượu isostearyl, rượu elaidyl, rượu oleyl, rượu linoleyl, rượu elaidolinoleyl đa bất bão hòa, rượu linolenyl đa bất bão hòa, rượu elaidolinolenyl, rượu ricinoleyl đa bất bão hòa, rượu arachidyl, rượu behenyl, rượu erucyl, rượu lignoceryl, rượu xeryl, rượu montanyl, rượu cluytyl, rượu myricyl, rượu melissyl, và rượu geddyl.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được đưa vào chế phẩm giải phóng kéo dài nền vi cầu. Theo các phương án nhất định, vi cầu được tạo ra từ PLGA. Lượng CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được đưa vào vi cầu và tốc độ giải phóng CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) có thể được kiểm soát bằng cách thay đổi các điều kiện được sử dụng để điều chế vi cầu. Quy trình tạo ra chế phẩm giải phóng chậm được mô tả trong US 2005/0281861 và US 2008/0107694.

Theo các phương án nhất định, CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) được đưa vào vật cấy thoái biến sinh học (như vi kim). Vật cấy nền (như vi kim) thường được sử dụng để điều trị bệnh về mắt mà cần tải liều sau đó liều giảm dần của dược chất trong khoảng thời gian 1 ngày đến 6 tháng (Davis et al. (2004) *Curr Opin Mol Therap* 6, 195–205). Chúng được tạo ra phổ biến nhất từ copolyme axit poly-lactic (PLA) và/hoặc axit poly-lactic-glycolic (PLGA), mà thoái biến thành nước và cacbon dioxit. Tốc độ và mức độ dược chất giải phóng khỏi vật cấy có thể được làm giảm bằng cách thay đổi nồng độ tương ứng của lactit (chậm) và glycolit (nhanh), thay đổi tỷ lệ trọng lượng polyme, bổ sung lớp phủ khác chứa polyme, hoặc sử dụng dược chất không tan, kị nước. Sự giải phóng dược chất thường tạo ra động lực bậc nhất với sự vỡ ban đầu để giải phóng dược chất sau đó giảm nhanh mức độ dược chất. Vật cấy thoái biến sinh học không cần loại bỏ, vì chúng hòa tan theo thời gian (Hsu (2007) *Curr Opin Ophthalmol* 18, 235–9). Vật cấy thoái biến sinh học cũng cho phép tính linh hoạt về liều và điều trị từ khoảng thời gian ngắn (tuần) đến khoảng thời gian dài (nhiều tháng đến một năm), tùy thuộc vào tỷ lệ polyme PLA/PLGA, mà là có lợi khác trong việc điều chỉnh sự phân phối dược chất đối với tiến triển của bệnh, vì các yêu cầu về liều và điều trị có thể thay đổi theo thời gian. Chi tiết thêm về bào chế và cấy vật cấy thoái biến sinh học (như vật cấy PLGA hoặc PLA) để sử dụng cho mắt được đề xuất trong, ví dụ, WO 2006/093758, US 2006/0182783, WO 2009/026461, US 2008/0181929, US 2009/0263460, US 2010/0015158, US 2011/0207653, và US 2014/0154321. Chi tiết thêm về vi kim để phân phối dược chất cho mắt được đề xuất trong, ví dụ, Donnelly et al. (2010) *Drug Deliv* 14, 187-207; USP7918814, Yavux et al. (2013) *Sci World J.* doi.org/10.1155/2013/732340, và ở một nơi nào khác.

Vật bào chế và Kit

Theo các phương án nhất định, được đề xuất là vật bào chế chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây và nguyên liệu hữu ích để điều trị bệnh hoặc rối loạn về mắt (như bệnh tăng sinh mạch máu ở mắt hoặc rối loạn ở mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch quá mức). Vật bào chế có thể gồm đồ chứa và nhãn hoặc vật gài trong bao gói ở trên hoặc kết hợp với đồ chứa. Đồ chứa thích hợp bao gồm, ví dụ, chai, lọ nhỏ, ống tiêm, v.v.. Đồ chứa có thể được tạo ra từ các nguyên liệu khác nhau như thủy tinh hoặc chất dẻo. Theo các phương án nhất định, đồ chứa giữ chế phẩm là hữu hiệu để điều trị bệnh hoặc rối loạn về mắt (như bệnh tăng sinh mạch máu ở mắt hoặc rối loạn ở mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch quá mức) và có thể có bộ đầy đủ các món cần để cấy hệ phân phối dược chất giải phóng chậm trong mắt hoặc ở mắt, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dụng cụ tiêm, thuốc khu trú và thuốc để tiêm, dụng cụ phẫu thuật, chỉ khâu và kim khâu, và mặt nạ mắt. Theo các phương án nhất định, đồ chứa che phủ bao gói liều đơn vị vô trùng. Ít nhất một hoạt chất trong chế phẩm là CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây. Nhãn hoặc vật gài trong bao gói chỉ ra rằng chế phẩm được sử dụng để điều trị bệnh hoặc rối loạn về mắt (như bệnh tăng sinh mạch máu ở mắt hoặc rối loạn ở mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch quá mức). Nhãn hoặc vật gài trong bao gói sẽ còn gồm thông tin để sử dụng CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A (hoặc chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên) cho bệnh nhân. Vật để sản xuất và kit gồm liệu pháp kết hợp được mô tả ở đây cũng được dự định.

Vật gài trong bao gói dùng để chỉ hướng dẫn sử dụng thương có trong bao gói thương mại của sản phẩm điều trị chứa thông tin về chỉ dẫn, cách sử dụng, liều lượng, việc sử dụng, chống chỉ định và/hoặc cảnh báo liên quan đến việc sử dụng sản phẩm điều trị này. Theo các phương án nhất định, vật gài trong bao gói chỉ ra rằng chế phẩm chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được sử dụng để điều trị bệnh hoặc rối loạn về mắt (như bệnh tăng sinh mạch máu ở mắt hoặc rối loạn ở mắt được đặc trưng bởi sự tạo mạch quá mức được mô tả ở đây).

Kit cũng được đề xuất mà là hữu ích cho các mục đích khác nhau, ví dụ, để tách hoặc phát hiện VEGF-A, tùy ý kết hợp với vật để sản xuất. Để tách và tinh chế VEGF-A, kit có thể chứa CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây được kết nối với các hạt (ví dụ, hạt sepharose). Kit có thể được tạo ra mà chứa CKP

không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây để phát hiện và định lượng VEGF-A *in vitro*, ví dụ, trong ELISA hoặc vết. Như với vật để sản xuất, kit gồm đồ chứa và nhãn hoặc vật gài trong bao gói ở trên hoặc kết hợp với đồ chứa. Ví dụ, đồ chứa đựng dược phẩm chứa ít nhất một CKP không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A được mô tả ở đây. Đồ chứa khác có thể được bao gồm mà chứa, ví dụ, chất pha loãng và chất đệm, kháng thể kiểm soát, v.v.. Nhãn hoặc vật gài trong bao gói có thể đem lại sự mô tả về chế phẩm cũng như thông tin để sử dụng chẩn đoán hoặc *in vitro* được dự định.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Nguyên liệu và phương pháp cho ví dụ 2-3

Biểu hiện EETI-II ở thể thực khuẩn M13.

EETI-II được biểu hiện trên bề mặt của thể thực khuẩn M13 bằng cách cải biến phagemid pS2202b được mô tả trước đó (Skelton, N. J., Koehler, M. F., Zobel, K., Wong, W. L., Yeh, S., Pisabarro, M. T., Yin, J. P., Lasky, L. A., and Sidhu, S. S. (2003) Origins of PDZ domain ligand specificity. Structure determination and mutagenesis of the Erbin PDZ domain. *J Biol Chem* **278**, 7645-7654). Các kỹ thuật sinh học phân tử chuẩn được sử dụng để thay thế đoạn pS2202d mã hóa vùng Erbin PDZ với đoạn ADN mã hóa đối với EETI-II. Phagemid (p8EETI-II) thu được có trong khung đọc mở mà mã hóa đối với tín hiệu tiết protein gắn kết maltoza, sau đó đuôi gD và EETI-II và kết thúc với protein p8 phủ chính M13. p8EETI-II chứa *E. Coli* được cùng gây nhiễm bằng thể thực khuẩn hỗ trợ M13-KO7 và việc nuôi cấy được phát triển trong 30 ml môi trường 2YT được bổ sung 50 µg/ml Carbenecillin và 25 µg/ml Kanamycin ở 30°C qua đêm. Thể thực khuẩn đã nhân giống được tinh chế theo quy trình chuẩn (Tonikian, R., Zhang, Y., Boone, C., and Sidhu, S. S. (2007) Identifying specificity profiles for peptide recognition modules from phage-displayed peptide libraries. *Nat Protoc* **2**, 1368-1386) và được tạo huyền phù lại trong 1 ml dung dịch đệm PBT (PBS, 0,5% BSA và 0,1% TWEEN®20), dẫn đến tạo ra các hạt thể thực khuẩn mà bao nang ADN p8EETI-II và biểu hiện EETI-II. Mức độ biểu hiện được phân tích bằng cách sử dụng ELISA thể thực khuẩn.

Tạo thư viện và lựa chọn.

Thư viện EETI-II được tạo ra theo phương pháp gây đột biến Kunkel (Kunkel, T. A., Roberts, J. D., and Zakour, R. A. (1987) Rapid and Efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. *Methods Enzymol* 154, 367-382). Ba thư viện được tạo ra: thư viện 1, trong đó vòng 1 (3-8) được chọn ngẫu nhiên với codon thoái hóa mã hóa tất cả các axit amin tự nhiên ngoại trừ Cys với 6, 8 hoặc 10 axit amin trong chiều dài; hoặc thư viện 2, trong đó vòng 5 (22-26) được chọn ngẫu nhiên với cùng một bộ codon thoái hóa với chiều dài cố định chứa 5 axit amin; hoặc thư viện 3, trong đó cả hai vòng 1 được chọn ngẫu nhiên với 6, 8, và 10 axit amin và vòng 5 với 5 axit amin đồng thời với codon thoái hóa mã hóa đối với 19 axit amin. Oligonucleotit để gây đột biến được tổng hợp bằng cách sử dụng hỗn hợp tùy ý chứa phosphoramidit trime mã hóa đối với 19 axit amin với nồng độ đẳng mol. (Glen Research, Sterling, VA). Khuôn mẫu dừng là ADN sợi đơn của p8EETI-II chứa ba codon dừng trong vùng 3-26 và được sử dụng để tạo ra cả ba thư viện. Tập hợp ba thư viện chứa ~3 x 10^{10} thành phần duy nhất và được tuần hoàn qua các chu kỳ chọn lọc gắn kết kháng hVEGF (8-109) được giữ trên đĩa đối với bốn chu kỳ theo quy trình chuẩn (Tonikian, R., Zhang, Y., Boone, C., and Sidhu, S. S. (2007) Identifying specificity profiles for peptide recognition modules from phage-displayed peptide libraries. *Nat Protoc* **2**, 1368-1386) với sự thay đổi là, 25ug/ml hVEGF(8-109) được sử dụng để phủ đĩa và thể thực khuẩn được tách rửa được nhân giống bằng cách phát triển giống nuôi cấy qua đêm ở 30°C.

ELISA thể thực khuẩn vết.

Sau bốn chu kỳ chọn lọc gắn kết, dòng vô tính thể thực khuẩn riêng lẻ được chọn và ủ trong 450µl môi trường 2YT chứa 50µg/ml Carbenecillin và thể thực khuẩn hỗ trợ M13-KO7 trong khối 96 lỗ, được phát triển ở 37°C qua đêm. Dịch nổi được phân tích bằng ELISA thể thực khuẩn vết như sau: hVEGF(8-109) hoặc BSA được phủ lên đĩa miễn dịch 384 lỗ MAXISORP™ và dịch nổi thể thực khuẩn được pha loãng (tỷ lệ 1:3) bằng dung dịch đệm PBT được bổ sung vào các lỗ. Đĩa được rửa và thể thực khuẩn gắn kết được phát hiện bằng kháng thể kháng M13-HRP, sau đó là chất nền TMB. Trong các thử nghiệm này, thể thực khuẩn gắn kết với một mình BSA được kiểm tra song song để đánh giá nền gắn kết. Các dòng vô tính có tín hiệu gắn kết đối với hVEGF-A (8-109)

là cao hơn 3 lần so với BSA (nền) được coi là dương tính. Các dòng vô tính dương được phân tích trình tự ADN.

Tinh thể học.

Để tạo thành phức chất thích hợp, VEGF-A được cô thành 7 mg/ml và ủ với lượng mol dư 6 lần của biến thể VEGF_CKP9.54.90. Các tinh thể VEGFA/ VEGF_CKP9.54.90 của nhóm không gian dòng vô tính đơn nguyên thủy $P12_11$ được phát triển ở 19°C bằng phương pháp khuếch tán hơi giọt treo sử dụng tỷ lệ giọt là 2:1 protein: dung dịch nguồn. Dung dịch nguồn chứa 100 mM HEPES pH 7,4 và 26% PEG 3350. Các tinh thể được bảo vệ cryo trong dung dịch nguồn được bổ sung 25% PEG 200 và đông lạnh nhanh trong nitơ lỏng trước khi thu thập số liệu.

Thu thập số liệu và xác định cấu trúc.

Số liệu nhiễu xạ tia X được thu thập ở 1,64 Å với dòng chùm 21IDF với nguồn photon cao cấp. Số liệu được xử lý bằng cách sử dụng iMosflm. Cấu trúc này được giải quyết bằng cách thay thế phân tử bằng cách sử dụng bộ định pha trong Phenix với cấu trúc apo VEGF-A được công bố trước đó (PDB: 1VPF) ở dạng mô hình nghiên cứu và một dime VEGF-A trong đơn vị bất đối xứng. Mật độ $F_o - F_c$ rõ ràng có mặt đối với biến thể VEGF_CKP9.54.90, nên cấu trúc của biến thể này được tạo lập thành mật độ bằng cách sử dụng Coot và sau đó xử lý bằng các chu kỳ lặp lại của việc tinh chế và tái tạo bằng cách sử dụng Phenix và Coot.

Thử nghiệm KDR-CHO VEGF để xác định IC_{50} của tế bào

Các tế bào KDR-CHO (tế bào CHO được chuyển nhiễm ổn định bằng KDR có đuôi gD) được phát triển trong môi trường phát triển tế bào (DMEM/Ham's F-12, 10% FBS được siêu lọc (GIBCO danh mục số 26400), 25 mM HEPES, 2 mM L-GLUTAMAX™). Đối với thử nghiệm kích thích VEGF, $5x10^4$ tế bào/lỗ được đặt vào đĩa trong 100 µl môi trường phủ tế bào (DMEM/Ham's F-12, 0,2% BSA, 0,25% FBS được siêu lọc, 25 mM HEPES, 2 mM L-GLUTAMAX™) trong đĩa nuôi cấy mô 96 lỗ và ủ ở 37°C qua đêm. Môi trường được thay bằng 100 µl môi trường kích thích tế bào không có huyết thanh (DMEM/Ham's F-12, 0,5% BSA, 25 mM HEPES) và các tế bào được ủ ở 37°C trong 2 giờ. Một giờ trước khi kích thích, môi trường được thay bằng 50

µl môi trường kích thích tế bào không có huyết thanh. Đồng thời, VEGF (50 ng/ml đối với hVEGF, 100 ng/ml đối với mVEGF và rVEGF) được ủ sơ bộ với lượng được chuẩn độ của CKP hoặc kháng thể kháng VEGF trong 50 µl môi trường kích thích tế bào không có huyết thanh ở 37°C trong 1 giờ và được bổ sung vào các tế bào. Các tế bào được kích thích trong 15 phút ở 37C và môi trường được loại bỏ. Các tế bào được làm tan bằng 130 µl dung dịch đệm phân giải tế bào đá lạnh (150 mM NaCl, 50 mM HEPES, 0,5% Triton-X 100, hỗn hợp chất ức chế proteaza HALT và phosphataza (ThermoFisher Scientific, Inc. danh mục số 78444), 5 mM EDTA). Quá trình phosphoryl hóa Tyr do VEGF gián tiếp gây ra đối với KDR được xác định bằng thử nghiệm dựa trên ELISA. Tóm lại, đĩa 96 lỗ MAXISORP™ (ThermoFisher Scientific, Inc. danh mục số 439454) được phủ bằng 100 µl kháng thể kháng gD được pha loãng trong PBS (1 µg/ml) ở 4°C qua đêm và rửa ba lần bằng dung dịch đệm rửa (PBS, 0,05% TWEEN®20, pH 7,4). Các đĩa được chặn bằng 300 µl dung dịch đệm chặn (PBS, 0,5% BSA) ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ sau đó rửa ba lần bằng dung dịch đệm rửa. Dịch tan tế bào KDR-CHO (100 µl) được bổ sung vào mỗi lỗ và ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Các đĩa được rửa bốn lần bằng dung dịch đệm rửa sau đó ủ với 100 µl 0,5 µg/ml kháng thể kháng phosphotyrosin được tiếp hợp với biotin (dòng vô tính 4G10, Millipore danh mục số 16-103) trong dung dịch đệm chặn ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Sau khi rửa bốn lần, các đĩa được ủ với 100 µl streptavidin được tiếp hợp với HRP trong dung dịch đệm chặn ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Sau khi rửa bốn lần, các đĩa được phát triển với 100 µl chất nền TMB (BD Biosciences) ở nhiệt độ trong phòng trong 20~30 phút và được làm ngừng bằng cách bổ sung 50 µl dung dịch H_2SO_4. Mật độ quang học của mỗi lỗ được xác định bằng cách sử dụng bộ đọc vi đĩa được thiết lập đến 450 nm.

ELISA cạnh tranh

Tính đặc hiệu gắn kết của mỗi peptit được thiết lập bằng ELISA cạnh tranh. Đầu tiên, sự gắn kết của mỗi yếu tố phát triển với thụ thể tương ứng của chúng trong dạng ELISA đĩa được xác nhận bằng cách phủ VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, PlGf-2, NGF, EGF, PDGF-ββ, hoặc IGF-1 ở 2 hoặc 5 µg/mL trong đĩa MAXISORP™ qua đêm ở 4°C trong PBS. Sau khi chặn bằng dung dịch đệm chặn (PBS với 0,5% BSA và 0,05% TWEEN®20) trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng, thể dung hợp thụ thể-Fc hoặc các thụ thể biotin hóa được pha loãng theo dãy bằng cách sử dụng dung dịch thử nghiệm

(PBS với 0,5% BSA và 0,05% TWEEN®20) và ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Lượng thụ thể-Fc gắn kết hoặc thụ thể biotin hóa được phát hiện bằng cách ủ với kháng thể kháng Fc-HRP của người (Life Technologies) hoặc streptavidin-HRP ái lực cao (ThermoFisher Scientific, Inc.) lần lượt trong 30 phút. ELISA cạnh tranh được thực hiện theo mô hình giống hệt như nêu trên trừ việc sau khi chặn, hỗn hợp peptit được pha loãng theo dãy chứa nồng độ không đổi của thể dung hợp thụ thể-Fc hoặc thụ thể biotin hóa (nồng độ của thụ thể được đặt đến EC_{60}) được bổ sung vào và ủ trong 1 giờ. Tất cả các protein và kháng thể người tái tổ hợp được mua từ R &D Systems (Minneapolis, MN).

Thử nghiệm gắn kết SPR.

Động lực và ái lực gắn kết của chất ức chế VEGF-A được đánh giá bằng cách sử dụng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt bằng dụng cụ BIACORE™ 3000 (GE Healthcare) ở 37°C sử dụng dung dịch đệm HBS-EP (10 mM HEPES pH 7,4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA và 0,005% thể tích/thể tích chất hoạt động bề mặt P20) chứa 0,1% DMSO (thể tích/thể tích). Tùy thuộc vào dạng thử nghiệm, phần tử nhạy streptavidin (SA) hoặc phần tử nhạy được phủ dextran (CM5) được sử dụng như được mô tả dưới đây.

Để sử dụng với phần tử nhạy SA, đầu tiên VEGF-A được biotin hóa (không nhiều hơn 2 biotin/ VEGF-A) bằng cách ủ protein với NHS-PEG4-Biotin liên kết EZ (Pierce) theo tỷ lệ mol lần lượt là 1:1,5, trong PBS trong 2 giờ trên nước đá. Sau đó, phản ứng được làm ngừng bằng cách bổ sung lượng dư 10 mol Glyxin pH 8,0 và mẫu này được trao đổi đệm trong PBS sử dụng Amicon 0,5 mL bộ siêu lọc ly tâm 3000 MWCO (EMD Millipore). Trạng thái biotin hóa của protein được kiểm tra bằng phân tích LC-MS. Sau đó, VEGF-A được biotin hóa được giữ trên bề mặt cho đến khi tín hiệu đơn vị cộng hưởng (resonance unit: RU) khoảng ~400. Đối với việc làm cố định VEGF-A trên phần tử nhạy CM5, đầu tiên bề mặt được hoạt hóa bằng hỗn hợp N-etyl-N'-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit hydroclorua và N-hydroxysucxinimit (EDC/NHS) theo hướng dẫn của nhà cung cấp. Sau đó, VEGF-A được pha loãng trong dung dịch đệm nối (0,1 M dung dịch đệm axetat, pH 5,0) và tiêm cho đến khi tín hiệu đạt khoảng ~400 RU sau đó rửa bằng 1 M etanolamin pH 8,0 để làm ngừng các vị trí hoạt hóa còn lại.

Sau bước giữ, một dãy nồng độ peptit được điều chế trong dung dịch đệm HBS-EP với việc làm phù hợp nồng độ DMSO đến 0,1% và tiêm với tốc độ 80 µl/phút. Sau đó, biểu đồ phần tử nhạy thu được được phân tích bằng cách sử dụng mô hình gắn kết 1:1 để thu được số liệu động lực và ái lực bằng cách sử dụng Scrubber 2.0 (BioLogic Software).

Tổng hợp CKP và gấp nếp.

Tiền chất tuyến tính peptit LRP6 được hòa tan trong DMSO (0,5mg/mL) vào 0,1M amoni bicacbonat (pH 9), 1mM glutathion khử trong 50% DMSO và ủ trong khi lắc ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. CKP đã gấp nếp được tinh chế bằng RP-HPLC trên cột C18 và sau đó các phân đoạn thu gom được phân tích bằng phổ khối, tập hợp và làm đông khô nhanh trước khi sử dụng.

Nuôi cấy tế bào và chuyển nhiễm.

Các tế bào HEK293 được chuyển nhiễm ổn định bằng thụ thể Wnt luciferaza đom đóm (Gong et al. (2010) *PLoS ONE* 5,9: e12682). Và PRL-SV40 Renilla luciferaza (Promega) được phát triển đến mức nhập dòng 90% trong DMEM:F12 (50:50) được bổ sung 10% FBS, 2 mM GLUTAMAX™ và 40 µg/ml hygromycin. Các tế bào được ủ trong thiết bị ủ có độ ẩm 5% CO_2 ở 37°C trong 24 giờ. Sau khi ủ, các tế bào được trypsin hóa (0,05% Gibco 15400-54 trong PBS) sau đó pha loãng đến $4x10^5$ tế bào/ml trong DMEM:F12 (50:50) được bổ sung 10% FBS, 2 mM GLUTAMAX™. 20.000 tế bào được nạp vào các lỗ riêng lẻ của đĩa optilux 96 lỗ vi kiểm tra màu trắng (danh mục số 353947) và ủ trong ~24 giờ. Mỗi lỗ được chuyển nhiễm bằng cách sử dụng FUGENE® HD với Wnt1-pCDNA3.2 (5ng/lỗ) hoặc Wnt3a-pCDNA3.2 (25ng/lỗ) sau đó phát triển trong 24 giờ. Tất cả các biến thể gắn kết với LRP6 được pha loãng trong DMSO và được bổ sung vào các tế bào với nồng độ DMSO cuối là 1% với các nồng độ peptit là 0, 0,1, 0,1, 1,0, 10, và 100 µM trong 6 giờ. Để kích thích bằng Wnt3a tái tổ hợp (5036-WN-010/CF, R&D Systems) được pha loãng trong PBS đến 50ng/mL và được bổ sung vào môi trường ủ với CKP chỉ định.

Sau đó, đáp ứng luciferaza trong tất cả các thử nghiệm được xác định bằng kit Promega's DUAL-GLO® theo hướng dẫn của nhà sản xuất, trừ việc sử dụng một nửa thể tích mỗi chất phản ứng. Sự phát sáng đom đóm và sự phát sáng Renilla được xác

định trên bộ đọc Perkin Elmer ENVISION™ Multilabel. Tỷ lệ của sự phát sáng đom đóm: sự phát sáng Renilla được tính toán và tiêu chuẩn hóa thành tỷ lệ trong các tế bào đối chứng biểu hiện hoặc được xử lý bằng protein Wnt chỉ định. Hằng số ức chế được tính toán bằng cách sử dụng số liệu tiêu chuẩn hóa trong Prism Graphpad sử dụng loga(chất ức chế) so với đáp ứng tiêu chuẩn hóa– độ dốc biến đổi Y=100/(1+10^((LogIC_{50}-X)* độ dốc)). Ý nghĩa thống kê được xác định bằng cách sử dụng phương pháp Holm-Sidak, với alpha=5,000%. Các tính toán giả thiết rằng tất cả hàng là mẫu từ quần thể với cùng mức độ phân tán (SD) và IC_{50} được nhận dạng là khác nhau đáng kể bằng cách sử dụng phép kiểm tra F tổng bình phương bổ sung trong đó P<0,05 khi có ý nghĩa.

Ví dụ 2A: Tạo thành biến thể EETI-II không tồn tại tự nhiên mà gắn kết với VEGF-A

EETI-II (**FIG. 1**) được chọn là khung để biểu hiện trên bề mặt của thể thực khuẩn M13. EETI-II được dung hợp với đầu tận cùng N của protein p8 phủ chính M13. Ngoài ra, đuôi gD được thiết lập đầu tận cùng N của trình tự EETI-II để kiểm tra mức độ biểu hiện. Ba thư viện thể thực khuẩn peptit được tạo thành dựa vào khung EETI-II như sau: thư viện I trong đó các gốc axit amin vòng 1 được chọn ngẫu nhiên và chiều dài vòng được thay đổi (6, 8, 10 gốc); thư viện II trong đó các gốc axit amin vòng 5 được chọn ngẫu nhiên và chiều dài vòng tự nhiên được cố định; và thư viện III trong đó cả hai vòng 1 và 5 được chọn ngẫu nhiên về hàm lượng axit amin đồng thời và chiều dài vòng 1 được thay đổi từ 6 đến 10 gốc axit amin trong khi chiều dài vòng 5 được cố định. Nói chung, ba thư viện chứa 3 x 10^{10} thành viên duy nhất và được tuần hoàn qua các chu kỳ lựa chọn kháng VEGF-A.

Sự chọn lọc kháng VEGF-A tạo ra mười ba biến thể duy nhất mà được gắn kết với $hVEGF_{8-109}$ (xem **Bảng 19**). Các biến thể này chứa các thay đổi về thành phần axit amin trong vòng 1 hoặc cả hai vòng 1 và 5 đồng thời. Tương tự, số lượng biến thể có vòng dài hơn so với vòng tự nhiên có mặt trong EETI-II. Kiểu **YXS** bảo toàn cũng là rõ ràng trong vòng 5. Chúng tôi tạo thành các peptit xystin-knot hòa tan được gấp nếp mà tương ứng với bảy trong số các biến thể duy nhất này, và chúng đều cho thấy sự gắn kết với hVEGF-A trong ELISA thể thực khuẩn cạnh tranh (**Bảng 19**). Hơn nữa, chúng tôi đánh giá một số biến thể trong thử nghiệm tế bào và chúng cho thấy sự ức chế chéo loài đối với hoạt tính của VEGF-A người, chuột nhắt và chuột với IC_{50} ở mức μM thấp.

Bảng 19: Chất gắn kết trên cơ sở EETI-II kháng hVEGF-A

Biến thể	VÒNG 1	VÒNG 5	n	ELISA	S/N*
EETI-II	PRILMR (SEQ ID NO: 92)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)		0,01	1,11
VEGF_CKP1	ETDWYPHQID (SEQ ID NO: 225)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	2	0,9	16,9
VEGF_CKP2	GETVFEQFLW (SEQ ID NO: 226)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	2	3,2	48,1
VEGF_CKP3	HMMYDY (SEQ ID NO: 227)	EMYDA (SEQ ID NO: 235)	2	3,1	42,9
VEGF_CKP4	KKWQWWYM (SEQ ID NO: 228)	YPWTE (SEQ ID NO: 236)	5	2,6	35,3
VEGF_CKP5	PAIQNWKEHP (SEQ ID NO: 229)	SWWPSL (SEQ ID NO: 237)	2	1,9	28,4
VEGF_CKP6	PTTRFKQY (SEQ ID NO: 8)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	28	3,5	51,9
VEGF_CKP7	QDPTFNWALY (SEQ ID NO: 9)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)	2	3,4	54,5
VEGF_CKP8	QLMHPFWG (SEQ ID NO: 230)	HWYRS (SEQ ID NO: 238)	2	3,9	59,4
VEGF_CKP9	QLMQPFWG	HWYQS	11	3,3	36,0

	(SEQ ID NO: 10)	(SEQ ID NO: 17)			
VEGF_CKP10	RDLDVKWD (SEQ ID NO: 11)	QYYSS (SEQ ID NO: 18)	3	3,2	43,7
VEGF_CKP11	RTPWEPHDIT (SEQ ID NO: 12)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	16	4,1	57,5
VEGF_CKP12	TTPWPPHEIM (SEQ ID NO: 13)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	75	3,5	55,2
VEGF_CKP13	VTPWKPHWIN (SEQ ID NO: 14)	GPNGF (SEQ ID NO: 15)	2	3,5	56,3

*S/N = tín hiệu đối với tỷ lệ nhiễu so với đối chứng BSA

Bảng 20: ELISA cạnh tranh thể thực khuẩn và hoạt tính ức chế tế bào của chất gắn kết trên cơ sở EETI-II hòa tan kháng hVEGF-A

Biến thể	**In vitro IC_{50} (μM)**	**Thử nghiệm tế bào**		
		hVEGF-A (25 ng/ml)	**mVEGF (50 ng/ml)**	**rVEGF (50 ng/ml)**
VEGF_CKP6	3	47	169	711,2 (riêng phần)
VEGF_CKP7	12	18	39	7
VEGF_CKP9	0,6	12	10	1
VEGF_CKP10	1	45	ND*	18
VEGF_CKP11	80	ND*	ND*	ND*
VEGF_CKP12	60	102	243	1220 (riêng phần)
VEGF_CKP13	80	ND*	ND*	ND*

*ND= không xác định

Để cải thiện thêm hiệu lực của các biến thể này, chúng tôi tiếp tục đối với VEGF_CKP7 và VEGF_CKP9. Sự lựa chọn ngẫu nhiên một phần được thực hiện đối với vòng 1 và 5 trong khung VEGF-CKP7, tạo ra 16 biến thể duy nhất được gắn kết với VEGF-A người (xem **Bảng 21** dưới đây).

Bảng 21: Chất gắn kết được làm thuần thục ái lực CKP_7 kháng hVEGF-A

Biến thể	**VÒNG 1**	**VÒNG 5**	**n**	**ELISA**	**S/N***
VEGF_CKP7	QDPTFNWALY (SEQ ID NO: 9)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)	1	0,1	1,3
VEGF_CKP7.2	DDPSFDWSVY (SEQ ID NO: 287)	RMYDS (SEQ ID NO: 292)	1	1,2	21,5
VEGF_CKP7.8	KNPLFNWALY (SEQ ID NO: 60)	QLFDS SEQ ID NO: 71)	2	0,5	7,5
VEGF_CKP7.17	QDPTVNWAVY (SEQ ID NO: 61)	QFYQS (SEQ ID NO: 72)	1	0,8	13,4
VEGF_CKP7.19	QDPTFNWAEY (SEQ ID NO: 62)	QLYQS (SEQ ID NO: 73)	2	0,6	11,1
VEGF_CKP7.24	WDPTFNWALY (SEQ ID NO: 288)	QMYDS (SEQ ID NO: 76)	2	0,8	13,4
VEGF_CKP7.35	QDPTFNWAEY (SEQ ID NO: 62)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)	3	0,6	10,6
VEGF_CKP7.43	QDPTLNWATY (SEQ ID NO: 289)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)	1	0,5	6,3
VEGF_CKP7.46	EDPTVDWAQY (SEQ ID NO: 290)	QMYQS (SEQ ID NO: 16)	1	0,3	4,9
VEGF_CKP7.50	QDPSLNWADY	QMHQS	1	0,8	14,3

	(SEQ ID NO: 63)	(SEQ ID NO: 74)			
VEGF_CKP7.54	LDRTLNWALY (SEQ ID NO: 64)	QMYNS (SEQ ID NO: 75)	1	0,5	9,3
VEGF_CKP7.57	LDPSFNWSLY (SEQ ID NO: 65)	QMYDS (SEQ ID NO: 76)	2	1,0	17,4
VEGF_CKP7.73	RDLTINWALF (SEQ ID NO: 66)	QMFNS (SEQ ID NO: 274)	1	1,2	19,2
VEGF_CKP7.78	KDTTFNWGLF (SEQ ID NO: 291)	QLYQS (SEQ ID NO: 73)	1	0,7	11,8
VEGF_CKP7.81	LDPTVNWALF (SEQ ID NO: 67)	QHYKT (SEQ ID NO: 77)	1	1,1	18,6
VEGF_CKP7.88	QDPKLNWAVY (SEQ ID NO: 68)	QLFNS (SEQ ID NO: 78)	2	0,5	7,7
LRP6_CKP7.89	LDPSFDWALY (SEQ ID NO: 69)	QLYNS (SEQ ID NO: 79)	1	0,5	8,1

*S/N = tín hiệu đối với tỷ lệ nhiễu so với đối chứng BSA

Sự lựa chọn ngẫu nhiên một phần được thực hiện đối với các vòng 1 và 5 trong khung VEGF-CKP9, tạo ra 16 biến thể duy nhất được gắn kết với VEGF-A người (xem **các bảng 22-24** dưới đây).

Bảng 22: Các biến thể được làm thuần thục ái lực vòng 1 của VEGF_CKP9 kháng VEGF-A

Biến thể	**Trình tự L1**	**n**	**ELISA**	**S/N***
VEGF_CKP9	QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)		0,4	7,4

VEGF_CKP9.L1.2	HLFEPLWG (SEQ ID NO: 245)	17	1,6	12,5
VEGF_CKP9.L1.7	QVMRPFWG (SEQ ID NO: 246)	3	1,5	8,9
VEGF_CKP9.L1.8	QVMQPAWG (SEQ ID NO: 247)	1	1,2	12,8
VEGF_CKP9.L1.19	HRLQPLWG (SEQ ID NO: 248)	3	1,4	11,6
VEGF_CKP9.L1.26	ELLQPSWG (SEQ ID NO: 249)	4	1,7	11,9
VEGF_CKP9.L1.57	NPMLPFWG (SEQ ID NO: 368)	3	3,7	31,8
VEGF_CKP9.L1.64	NVLLPLWG (SEQ ID NO: 250)	1	2,3	19,9
VEGF_CKP9.L1.68	DIMQPLWG (SEQ ID NO: 36)	1	2,0	23,2
VEGF_CKP9.L1.76	DLMQPLWG (SEQ ID NO: 251)	2	2,5	17,4
VEGF_CKP9.L1.78	NPMLPLWG (SEQ ID NO: 252)	1	3,0	25,1
VEGF_CKP9.L1.79	QVLQPSWG (SEQ ID NO: 253)	1	1,2	10,0

*S/N = tín hiệu đối với tỷ lệ nhiễu so với đối chứng BSA

Bảng 23: Các biến thể được làm thuần thục ái lực vòng 5 của VEGF_CKP9 kháng VEGF-A

Biến thể	Trình tự L5	n	ELISA	S/N*
VEGF_CKP9	HWYQS (SEQ ID NO:17)		0,9	11,6
VEGF_CKP9.L5.7	RWYNS (SEQ ID NO: 133)	11	1,4	18,9
VEGF_CKP9.L5.18	HWYQS (SEQ ID NO: 17)	1	1,6	20,4
VEGF_CKP9.L5.43	RWYHS (SEQ ID NO: 43)	2	0,9	13,6

*S/N = tín hiệu đối với tỷ lệ nhiễu so với đối chứng BSA

Bảng 24: Các biến thể được làm thuần thục ái lực vòng 1/vòng 5 của VEGF_CKP9 kháng VEGF-A

Biến thể	Vòng 1	Vòng 5	n	ELISA	S/N*
VEGF_CKP9	QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)	HWYQS (SEQ ID NO:17)		0,4	7,4
VEGF_CKP9.2	DVLQPFWG (SEQ ID NO: 28)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)	20	2,4	31,1
VEGF_CKP9.3	QISQPFWG (SEQ ID NO: 29)	HFYNS (SEQ ID NO: 41)	1	1,6	24,5

VEGF_CKP9.4	DRMQPLWG (SEQ ID NO: 30)	LWYKS (SEQ ID NO: 42)		N/D	N/D
VEGF_CKP9.9	QLLEPMWG (SEQ ID NO: 254)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1	1,1	19,7
VEGF_CKP9.14	KLLQPMWG (SEQ ID NO: 255)	RWYQS (SEQ ID NO: 44)	1	2,0	30,1
VEGF_CKP9.11	DRMQPYWG (SEQ ID NO: 256)	QWYKS (SEQ ID NO: 262)	1	1,1	14,1
VEGF_CKP9.20	NLMLPFWG (SEQ ID NO: 31)	RWYHS (SEQ ID NO: 43)	1	1,7	13,3
VEGF_CKP9.22	QRTQPFWG (SEQ ID NO: 32)	RWYQS (SEQ ID NO: 44)	1	1,2	17,2
VEGF_CKP9.47	KIMQPLWG (SEQ ID NO: 257)	LWYDS (SEQ ID NO: 263)	1	1,0	14,6
VEGF_CKP9.51	NLMHPFWG (SEQ ID NO: 258)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)	1	1,0	11,0
VEGF_CKP9.54	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,1	28,4
VEGF_CKP9.59	DPMQPFWG (SEQ ID NO: 34)	RWYQS (SEQ ID NO: 44)		N/D	N/D

VEGF_CKP9.63	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1	2,0	29,7
VEGF_CKP9.69	ALLQPLWG (SEQ ID NO: 259)	RWYNS (SEQ ID NO: 133)	1	1,0	14,3
VEGF_CKP9.71	QLLQPLWG (SEQ ID NO: 37)	RWYQS (SEQ ID NO: 44)	1	1,0	16,5
VEGF_CKP9.72	RLLEPSWG (SEQ ID NO: 260)	QWYQS (SEQ ID NO: 264)	1	0,6	10,0
VEGF_CKP9.76	HLLLPLWG (SEQ ID NO: 261)	RWYHS (SEQ ID NO: 43)	1	1,3	15,5
VEGF_CKP9.96	KLFEPLWG (SEQ ID NO: 39)	RWYES (SEQ ID NO: 567)	1	1,2	18,4

*S/N = tín hiệu đối với tỷ lệ nhiễu so với đối chứng BSA

Các dòng vô tính này được chọn để xác nhận thêm về thử nghiệm chuẩn độ thể thực khuẩn, và các dạng gấp nếp hòa tan tương ứng với mười trong số các trình tự này được tạo ra để đánh giá *in vitro* thêm (xem **Bảng 25** dưới đây). Từ tập hợp các biến thể này, VEGF_CKP9.2, VEGF_CKP9.54 và VEGF_CKP9.63 biểu hiện hiệu lực kháng VEGF-A cải thiện so với VEGF-CKP9 gốc trong thử nghiệm *in vitro* và thử nghiệm tế bào, với IC_{50} nằm trong khoảng 100 - 200 nM (xem **Bảng 25**).

Bảng 25: Hoạt tính ức chế trong ELISA cạnh tranh thể thực khuẩn và ELISA tương tác VEGF-A-KDR

Biến thể	IC_{50} (µM) trong ELISA thể thực khuẩn	IC_{50} (nM) tế bào
VEGF_CKP9	1,36	11700
VEGF_CKP9.2	0,168	270
VEGF_CKP9.3	1,50	N/D
VEGF_CKP9.4	1,95	N/D
VEGF_CKP9.20	1,34	N/D
VEGF_CKP9.22	>100	N/D
VEGF_CKP9.54	0,45	188
VEGF_CKP9.59	5,82	N/D
VEGF_CKP9.63	0,146	140
VEGF_CKP9.96	49,00	N/D

Để tăng cường hiệu lực, chúng tôi đã chọn các phân tử dẫn đầu 9.54 và 9.63 và tạo ra các thư viện thể thực khuẩn mới dựa trên các khung này trong đó vòng 2 được chọn ngẫu nhiên. Các thư viện mới được chọn lọc kháng hVEGF-A và tạo ra số lượng các biến thể vòng 2 mà thể hiện hiệu lực kháng VEGF-A cải thiện đáng kể so với các phân tử 9.54 và 9.63 gốc (lần lượt, xem các bảng **26** và **27** dưới đây), với các phân tử hữu hiệu nhất biểu hiện IC_{50} nằm trong khoảng 0,5 - 2 nM (xem **Bảng 28** dưới đây).

Bảng 26: Các biến thể vòng 2 gắn kết VEGF-A được làm thuần thục ái lực dựa trên khung 9.54

Biến thể	VÒNG 1	VÒNG 2	VÒNG 5	n	ELISA	S/N *
VEGF_CKP9	QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)	KQDSD (SEQ ID NO: 93)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)			
VEGF_CKP9.54	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	KQDSD (SEQ ID NO: 93)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)			
VEGF_CKP9.54.1	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GQSFE (SEQ ID NO: 94)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	80	2,4	29,9
VEGF_CKP9.54.2	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GLDYD (SEQ ID NO: 95)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	0,1	26
VEGF_CKP9.54.12	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GPELN (SEQ ID NO: 298)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,4	38,8
VEGF_CKP9.54.14	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	QADYA (SEQ ID NO: 299)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,5	23,5
VEGF_CKP9.54.16	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GVDYL (SEQ ID NO: 300)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,4	30,8
VEGF_CKP9.54.31	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GTNFL (SEQ ID NO: 301)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,3	32,5

VEGF_CKP 9.54.44	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	SRDFD (SEQ ID NO: 302)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,4	34,4
VEGF_CKP 9.54.48	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	NRDFL (SEQ ID NO: 303)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,5	34,9
VEGF_CKP 9.54.51	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GWDQF (SEQ ID NO: 304)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,5	44,5
VEGF_CKP 9.54.56	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GKDFH (SEQ ID NO: 305)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,3	35,8
VEGF_CKP 9.54.59	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GPDLQ (SEQ ID NO: 96)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,3	35,4
VEGF_CKP 9.54.64	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	SGDFA (SEQ ID NO: 306)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,2	22,4
VEGF_CKP 9.54.69	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GKELN (SEQ ID NO: 307)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,5	21,7
VEGF_CKP 9.54.76	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GWSMD (SEQ ID NO: 308)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,7	42,2
VEGF_CKP 9.54.87	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GYDLQ (SEQ ID NO: 309)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,4	26,1

VEGF_CKP 9.54.90	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	1	2,3	29,5

*S/N = tín hiệu đối với tỷ lệ nhiễu so với đối chứng BSA

Bảng 27: Các biến thể vòng 2 gắn kết với VEGF-A được làm thuần thục ái lực dựa trên khung VEGF_CKP9.63

***S/N = tín hiệu đối với tỷ lệ nhiễu so với đối chứng BSA**

Biến thể	**VÒNG 1**	**VÒNG 2**	**VÒNG 5**	**ELISA**	**S/N***
VEGF_CKP 9	QLMQPFWG (SEQ ID NO: 10)	GRDLQ (SEQ ID NO: 322)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)		
VEGF_CKP 9.63	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GVDLS (SEQ ID NO: 323)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)		
VEGF_CKP 9.63.1	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GPDID (SEQ ID NO: 118)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2,0	25,2
VEGF_CKP 9.63.2	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GDDLE (SEQ ID NO: 324)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2,0	15,0
VEGF_CKP 9.63.3	DVMQPYWG	GVDMT	HWYNS	1,7	20,7

	(SEQ ID NO: 35)	(SEQ ID NO: 325)	(SEQ ID NO: 46)		
VEGF_CKP 9.63.12	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GMDIE (SEQ ID NO: 326)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2,6	39,9
VEGF_CKP 9.63.14	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	DGDYQ (SEQ ID NO: 327)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1,5	21,3
VEGF_CKP 9.63.15	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GNDVS (SEQ ID NO: 328)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1,5	21,4
VEGF_CKP 9.63.16	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GRDMD (SEQ ID NO: 119)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2,2	10,3
VEGF_CKP 9.63.18	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	AGDEL (SEQ ID NO: 329)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2,3	17,3
VEGF_CKP 9.63.24	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GLDEE (SEQ ID NO: 330)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1,6	20,4
VEGF_CKP 9.63.27	DVMQPY WG	DGDFD (SEQ ID NO: 331)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2,1	26,0

	(SEQ ID NO: 35)				
VEGF_CKP 9.63.30	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	AGDFE (SEQ ID NO: 332)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2,0	26,0
VEGF_CKP 9.63.37	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	EMDFD (SEQ ID NO: 120)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0,6	8,6
VEGF_CKP 9.63.39	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GNSFE (SEQ ID NO: 333)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1,6	18,9
VEGF_CKP 9.63.42	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GQDLT (SEQ ID NO: 334)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1,7	23,1
VEGF_CKP 9.63.44	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GENLA (SEQ IDNO: 335	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1,7	19,5
VEGF_CKP 9.63.47	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GQDYN (SEQ ID NO: 336)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1,7	20,7
VEGF_CKP 9.63.50	DVMQPY WG	GADLS (SEQ ID NO: 337)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0,9	12,7

	(SEQ ID NO: 35)				
VEGF_CKP 9.63.54	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GFDMD (SEQ ID NO: 338)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1,4	19,9
VEGF_CKP 9.63.56	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GESLS (SEQ ID NO: 211)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1,8	8,4
VEGF_CKP 9.63.62	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	DLNYE (SEQ ID NO: 339)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	1,8	25,4
VEGF_CKP 9.63.65	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GRDLQ (SEQ ID NO: 322)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2,0	27,1
VEGF_CKP 9.63.69	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GVDLS (SEQ ID NO: 323)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2,9	23,7
VEGF_CKP 9.63.87	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GPDID (SEQ ID NO: 118)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0,9	8,6

Bảng 28. Hoạt tính ức chế của các biến thể vòng 2 thu được từ VEGF_CKP9.54 và VEGF_CKP9.63 kháng VEGF-A

Biến thể	VÒNG 1	VÒNG 2	VÒNG 5	IC_{50} (nM) của KDR-VEGF	IC_{50} (nM) tế bào
VEGF_CKP 9	QLMQPFW G (SEQ ID NO: 10)	KQDSD (SEQ ID NO: 93)	HWYQS (SEQ ID NO: 17)	569	11700
VEGF_CKP 9.54	NIMLPFW G (SEQ ID NO: 33)	KQDSD (SEQ ID NO: 93)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	5,8	188
VEGF_CKP 9.54.1	NIMLPFW G (SEQ ID NO: 33)	GQSFE (SEQ ID NO: 94)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	0,2	1,47
VEGF_CKP 9.54.2	NIMLPFW G (SEQ ID NO: 33)	GLDYD (SEQ ID NO: 95)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	0,2	4,3
VEGF_CKP 9.54.59	NIMLPFW G (SEQ ID NO: 33)	GPDLQ (SEQ ID NO: 96)	QYYQS (SEQ ID NO: 45)	0,5	3,06
VEGF_CKP 9.54.90	NIMLPFW G	GRDFE	QYYQS	0,2	1,35

	(SEQ ID NO: 33)	(SEQ ID NO: 97)	(SEQ ID NO: 45)		
VEGF_CKP 9.63	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	KQDSD (SEQ ID NO: 93)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	10,8	140
VEGF_CKP 9.63.1	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GENFL (SEQ ID NO: 117)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0,4	0,49
VEGF_CKP 9.63.27	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GRDMD (SEQ ID NO: 119)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0,3	5,28
VEGF_CKP 9.63.44	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	EMDFD (SEQ ID NO: 120)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0,2	2,05
VEGF_CKP 9.63.69	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GESLS (SEQ ID NO: 211)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	2,1	26,4
VEGF_CKP 9.63.12	DVMQPY WG (SEQ ID NO: 35)	GPDID (SEQ ID NO: 118)	HWYNS (SEQ ID NO: 46)	0,7	1,83

Ái lực / hiệu lực của VEGF_CKP9.63.1, VEGF_CKP9.63.27, VEGF_CKP9.63.44, VEGF_CKP9.63.69, và VEGF_CKP9.63.12 đối với hVEGF-A (8-109) được nêu dưới đây trong **Bảng 29**.

Bảng 29

Biến thể	**k_a**	**k_d**	**K_D**
EM63	0,16 ± 0,03	1,6 ± 0,5	100 ± 9 nM
L2.9.63.1	6 ± 1	0,37 ± 0,13	5,8 ± 1,2
L2.9.63.12	8 ± 1	0,10 ± 0,04	1,1 ± 0,2
L2.9.63.27	11 ± 4	0,15 ± 0,04	1,4 ± 0,2
L2.9.63.44	10 ± 2	0,11± 0,02	1,2 ± 0,2
L2.9.63.69	3 ± 1	0,20 ± 0,04	6,9 ± 0,7

Các biến thể VEGF_CKP9.54.90 (xem dòng 2 của **Bảng 26**) và VEGF_CKP9.63.12 (xem dòng 6 của **Bảng 27**), cũng như các biến thể gốc VEGF_CKP9.54 (xem dòng 12 của **Bảng 24**) và VEGF_CKP9.63 (xem dòng 15 của **Bảng 24**), gắn kết với ái lực tương tự với VEGF-A người, chuột nhắt, chuột và thỏ, như được xác định bằng cộng hưởng plasmon bề mặt. Xem **Bảng 30** dưới đây.

Bảng 30: Động lực và ái lực gắn kết của VEGF_CKP9.54.90, VEGF_CKP9.63.12, VEGF_CKP9.54, và VEGF_CKP9.63 đối với các đồng dạng VEGF khác nhau.

Biến thể	**Đồng dạng VEGF**	**ka**	**ka (lỗi)**	**kd**	**kd (lỗi)**	**KD (nM)**	**KD (lỗi)**
9.54	người 8-109	$1,26x10^6$	$1,10x10^5$	$2,18x10^{-1}$	$1,19x10^{-2}$	175,88	18,21

	người 165	$8,23x10^{5}$	$1,11x10^{5}$	$1,49x10^{-1}$	$1,29x10^{-2}$	189,67	34,57
	chuột nhắt 164	$8,26x10^{5}$	$2,93x10^{4}$	$2,07x10^{-1}$	$2,44x10^{-2}$	249,87	21,19
	chuột	$1,93x10^{6}$	$8,91x10^{5}$	$2,96x10^{-1}$	$9,36x10^{-2}$	175,64	26,27
	thỏ	$2,10x10^{6}$	$7,12x10^{5}$	$2,74x10^{-1}$	$9,14x10^{-2}$	133,22	9,47
9.54.90	người 8-109	$5,15x10^{7}$	$1,62x10^{7}$	$4,05x10^{-2}$	$8,77x10^{-3}$	0,87	0,13
	người 165	$1,58x10^{7}$	$3,87x10^{6}$	$1,33x10^{-2}$	$1,70x10^{-3}$	0,89	0,10
	chuột 164 nhắt	$8,71x10^{6}$	$2,79x10^{6}$	$1,01x10^{-2}$	$2,12x10^{-3}$	1,31	0,24
	chuột	$1,72x10^{7}$	$7,43x10^{6}$	$1,35x10^{-2}$	$3,33x10^{-3}$	0,90	0,14
	thỏ	$5,15x10^{7}$	$1,36x10^{7}$	$6,75x10^{-2}$	$8,99x10^{-3}$	1,14	0,18
9.63	người 8-109	$6,62x10^{5}$	$9,83x10^{4}$	$1,81x10^{-1}$	$2,56x10^{-2}$	281,44	43,53
	người 165	$3,40x10^{5}$	$2,79x10^{4}$	$1,30x10^{-1}$	$1,33x10^{-2}$	381,89	19,15
	chuột nhắt 164	$5,57x10^{5}$	$4,60x10^{4}$	$1,60x10^{-1}$	$1,35x10^{-2}$	288,75	11,08
	chuột	$4,56x10^{5}$	$1,49 x10^{5}$	$2,46x10^{-1}$	$9,23x10^{-2}$	523,93	25,06
	thỏ	$4,24x10^{5}$	$3,22x10^{4}$	$1,30x10^{-1}$	$1,95x10^{-2}$	311,43	52,25
9.63.12	người 8-109	$6,54x10^{6}$	$7,25x10^{5}$	$2,50x10^{-2}$	$3,45x10^{-3}$	3,20	0,22
	người 165	$4,65x10^{6}$	$8,39x10^{5}$	$2,01x10^{-2}$	$3,95x10^{-3}$	4,32	0,15

	chuột nhắt 164	$1,04x10^6$	$2,81x10^5$	$1,32x10^{-2}$	$3,04x10^{-3}$	13,07	1,74
	chuột	$6,44x10^6$	$3,87x10^6$	$2,59x10^{-2}$	$1,01x10^{-2}$	5,74	1,54
	thỏ	$6,91x10^6$	$1,35x10^6$	$1,78x10^{-2}$	$4,46x10^{-3}$	2,54	0,40

VEGF_CKP9.54.90 cũng chọn lọc cao đối với VEGF-A và không gắn kết với hoặc ức chế hoạt tính của các đồng dạng VEGF khác như VEGF-B, VEGF-C và VEGF-D hoặc các yếu tố phát triển khác như P1GF, EGF, NGF, IGF và PDGF. Như được thể hiện trên các hình vẽ **FIG. 2A và 2B**, biến thể VEGF_CKP9.54.90 làm gián đoạn sự tương tác giữa VEGF-A và KDR cũng như sự tương tác giữa VEGF-A và Flt-1, nhưng không làm gián đoạn sự tương tác giữa VEGF-B và Flt-1, giữa VEGF-C và Flt-4, giữa VEGF-D và Flt-4, giữa PIGF-2 và Flt-1, giữa EGF và EGFR, giữa PDGF và PDGFR, giữa NGF và NGFR, hoặc giữa IGF và IGFR.

EETI-II, VEGF_CKP9.54.90, VEGF_CKP9.54, và VEGF_CKP9.63.12 khác không ức chế hoạt tính của trypsin proteaza như được xác định trong thử nghiệm tách chất nền peptit (Stanger et al. (2014) *FEBS Lett. 588* (23), 4487-96). Xem **FIG. 3**. Tuy nhiên, VEGF_CKP9.54.90 và VEGF_CKP9.63.12 vẫn giữ mức độ đề kháng với sự tiêu hóa trypsin (xem **FIG. 4**). Khoảng 20% VEGF_CKP9.54.90 được tách ở Arg13 trong vòng 2 sau 24 giờ ủ với trypsin ở 37°C.

VEGF_CKP9.54, VEGF_CKP9.63, và VEGF_CKP9.54.90 mỗi loại chứa khoảng một chuỗi xoắn alpha 3 vòng và mỗi loại chấp nhận tín hiệu disulfua khác biệt với tín hiệu của EETI-II kiểu dại (C1-C4, C2-C3, C5-C6 đối với VEGF_CKP9.54.90 so với C1-C4, C2-C5, C3-C6 đối với EETI-II kiểu dại). Xem **FIG. 5**. Ở một phía của chuỗi xoắn, VEGF_CKP9.54.90 tạo ra cấu trúc hai vòng được dung hợp mà được liên kết bởi hai liên kết disulfua (C1-C4 và C2-C3), bao gồm các vòng 1, 2 và 3, và ~ 1,5 vòng chuỗi xoắn alpha. Vòng 5 tạo ra ở phía đối diện của chuỗi xoắn và được ràng buộc bởi liên kết disulfua C5-C6.

Các cấu trúc đồng tinh thể của VEGF_CKP9.54, VEGF_CKP9.63, và VEGF_CKP9.54.90 trong phức chất với VEGF-A thu được. Các cấu trúc đồng tinh thể của VEGF_CKP9.54, VEGF_CKP9.63, và VEGF_CKP9.54.90 trong phức chất với VEGF-A có độ tương tự cao. Xem các hình vẽ **FIG. 5** và **6** đối với cấu trúc đồng tinh

thể của VEGF_CKP9.54 trong phức chất với VEGF-A. Đưa ra các cấu trúc của VEGF_CKP9.54, VEGF_CKP9.63, và VEGF_CKP9.54.90 có độ tương tự cao, (xem các hình vẽ **FIG. 5** và **6**) các thử nghiệm khác được thực hiện với VEGF_CKP9.54.90. Chuỗi xoắn được xác định bởi các gốc Phe15 – Tyr26 của VEGF_CKP9.54.90 tạo thành sự tương tác phân cực và kị nước rộng với bề mặt VEGF-A (xem **Bảng 31** dưới đây). Ngoài ra, có mạng lưới của các liên kết H trong khung chính tạo thành trong vòng và làm ổn định chuỗi xoắn alpha ~3 vòng. Nói chung, VEGF_CKP9.54.90 thể hiện cấu trúc dày đặc và không linh hoạt, được làm ổn định bởi sự tiếp xúc kị nước và phân cực trong phân tử, bao gồm các tương tác khung chính-khung chính, mạch phụ-khung chính và mạch chính-mạch chính (**Bảng 32**). Bề mặt của VEGF_CKP9.54.90 mà tiếp xúc VEGF-A chủ yếu là kị nước trong tự nhiên với một vài mạch phụ phân cực (**Bảng 31**), trong khi bề mặt đối diện của peptit không tương tác với VEGF-A được tiếp xúc với dung môi và chủ yếu là phân cực trong tự nhiên.

Bảng 31: Các gốc VEGF_CKP9.54.90 mà trong vòng 4 Å của dime VEGF-A

Các gốc VEGF_CKP9.54.90 trong vòng 4 Å của VEGFA	
VEGF_CKP9.54.90 (mạch 1)	**VEGF_CKP9.54.90 (mạch 2)**
I4	I4
M5	M5
L6	L6
P7	P7
F8	F8
W9	W9
R13	R13
D14	D14
F15	F15

L18	L18
A19	A19
V22	V22
C23	C23
Y25	Y25
Y26	Y26
Q27	Q27
S28	S28
G30	G30

Bảng 32: Tóm tắt về các tương tác nội phân tử của VEGF_CKP9.54.90

Gốc 1	**Gốc 2**	**Chú giải**
Cys2	Cys21	Disulfua
Asn3	Trp9	Liên kết H mạch chính
Asn3	Met5	Asp3 tạo liên kết H với nitơ mạch chính M5
Asn3	Leu6	Liên kết H mạch chính
Leu6	Trp9	Liên kết H mạch chính
Pro7	Gly10	Liên kết H mạch chính
Phe8	Cys11	Liên kết H mạch chính
Phe8	Leu18	Tương tác Van der Waals
Trp9	Ile4, Leu18, Val22, Tyr25, Tyr26	Core Trp tạo mạng lưới tương tác Van der Waals
Cys11	Cys17	Disulfua

Gly12	Asp14	Liên kết H mạch chính
Asp14	Glu16, C17	Asp14 tạo liên kết H ổn định với đầu tận cùng N của chuỗi xoắn
Phe15	Leu18, Ala19	Chuỗi xoắn ổn định tương tác Van der Waals
Leu18	Val22	Chuỗi xoắn ổn định tương tác Van der Waals
Val22	Tyr26	Chuỗi xoắn ổn định tương tác Van der Waals
Phe15 – Tyr26		Mạng lưới liên kết H trong khung chính tạo ra chuỗi xoắn ~3 vòng ổn định
Cys23	Cys29	Disulfua
Tyr25	Tyr26	Chuỗi xoắn ổn định tương tác Van der Waals
Gln27	Cys23	Liên kết H mạch chính
Ser28	Cys23	Liên kết H mạch chính

Bề mặt chung gắn kết của VEGF_CKP9.54.90 trên VEGF-A chồng với bề mặt chung của thụ thể tự nhiên và kháng thể G6.31 (**FIG.7 và 8**). Các gốc tiếp xúc trên VEGF-A mà ở bề mặt chung peptit được tóm tắt trong **Bảng 33** và được thể hiện trên **FIG.9**. Epitop gắn kết của VEGF_CKP9.54.90 trên VEGF-A khác biệt với của ranibizumab và bevacizumab (**FIG.10**), mà không gắn kết với VEGF-A chuột nhắt hoặc chuột vì sự tương tác của chúng với VEGF-A người phụ thuộc vào gốc then chốt Gly88 được thế bằng Ser ở loài gặm nhấm. Kiểu gắn kết của VEGF_CKP9.54.90 đề xuất rằng không phụ thuộc đáng kể vào Gly88, và khái niệm này được chấp nhận bởi sự quan sát rằng peptit được gắn kết hữu hiệu với cả VEGF-A người và loài gặm nhấm. Đột biến nhắm vị trí được sử dụng để chấp nhận số lượng tiếp xúc trong bề mặt chung protein – peptit được quan sát từ cấu trúc tinh thể. Như mong đợi, các đột biến Y21A, Q89A và F17A/M81A trên VEGF-A dẫn đến sự gắn kết giảm của VEGF_CKP9.54.90 trên VEGF-A. Xem **FIG.11**. Tuy nhiên, đột biến K48A làm tăng sự gắn kết của

VEGF_CKP9.54.90 lên ~ 2-3 lần, tập tính mà giống với tập tính quan sát được với kháng thể G6.31 (Fuh et al. (2006) *J. Biol. Chem.* 281, 6625-6631). Xem **Bảng 34** dưới đây và **FIG. 11**.

Bảng 33. Các gốc dime VEGF-A mà trong vòng 4 Å của VEGF_CKP9.54.90

Các gốc VEGF-A trong vòng 4 Å của VEGF_CKP9.54.90	
VEGF-A (Mạch dime A)	**VEGF-A (Mạch dime B)**
	V14
	V15
F17	F17
M18	M18
	D19
Y21	Y21
Q22	Q22
Y25	Y25
I46	I46
K48	K48
N62	N62
D63	D63
L66	L66
M81	M81
I83	I83
K84	K84
P85	P85

H86	H86
Q87	Q87
G88	G88
Q89	Q89
I91	
	C104
	R105
P106	P106

Bảng 34: Động lực và ái lực gắn kết của VEGF_CKP9.54.90, VEGF_CKP9.63.12, VEGF_CKP9.54, và VEGF_CKP9.63 đối với các đột biến hVEGF-A khác nhau.

Biến thể	**Đột biến VEGF**	**ka**	**ka (lỗi)**	**kd**	**kd (lỗi)**	**KD (nM)**	**KD ((lỗi)**
9.54.90	WT	$7,81x10^{7}$	$1,86x10^{7}$	0,0300	$9,79x10^{-3}$	0,37	0,09
	Y21A	$3,72x10^{7}$	$1,30x10^{7}$	0,1202	$2,44x10^{-2}$	3,50	0,30
	K48A	$6,04x10^{7}$	$2,12x10^{7}$	0,0116	$3,77x10^{-3}$	0,19	0,02
	Q89A	$1,71x10^{7}$	$8,38x10^{6}$	0,1458	$5,99x10^{-2}$	8,80	0,45
	F17A/M81A						
9.63.12	WT	$8,43x10^{6}$	$1,47x10^{6}$	0,0096	0,0035	1,07	0,20
	Y21A	$1,99x10^{7}$	$6,84x10^{6}$	$1,48x10^{-1}$	$3,13x10^{-2}$	9,84	4,41
	K48A	$5,30x10^{7}$	$3,77x10^{7}$	0,017	0,013	0,33	0,01
	Q89A	$7,43x10^{6}$	$2,09x10^{6}$	0,47	$2,71x10^{-1}$	36,49	1,62
	F17A/M81A						

9.54	WT	$4,10x10^6$	$8,59x10^5$	0,2349	0,0778	55	7
	Y21A	$6,63x10^5$	$6,39x10^3$	0,2101	0,0389	317	56
	K48A	$2,64x10^6$	$2,24x10^5$	0,0587	0,0010	22	3
	Q89A	$3,37x10^5$	$1,41x10^5$	0,7932	0,5101	1882	460
	F17A/M81A						
9.63	WT	$1,57x10^6$	$3,14x10^5$	0,1624	0,05	100,34	9,40
	Y21A	$7,52x10^5$	$2,45x10^5$	0,4814	$2,13x10^{-1}$	584,85	112,171
	K48A	$5,72x10^5$	$1,75x10^5$	0,02	$5,24x10^{-3}$	28,4	4,8
	Q89A	$2,66x10^5$	$8,01x10^4$	0,51	$1,22x10^{-1}$	1999,8	127,5
	F17A/M81A						

Tiếp theo, các biến thể gắn kết với VEGF-A VEGF_CKP9.54.90, VEGF_CKP9.63.12, và VEGF_CKP9.63.44 được đánh giá về hiệu lực *in vivo* của chúng trong mô hình định hướng VEGF-A trong tân mạch hắc mạc. Vết bỏng bởi laze được tạo ra ở mắt chuột và sự tạo thành các mạch mới được kiểm tra sau thời gian 14 ngày với sự có mặt và vắng mặt peptit được sử dụng trong dịch kính ở các thời điểm khác nhau. Peptit VEGF_CKP9.54.90 thể hiện sự ức chế hữu hiệu tân mạch hắc mạc do laze gây ra ở mắt chuột, như được xác định bởi sự giảm đáng kể quan sát được ở diện tích tân mạch ở mắt được điều trị bằng peptit so với mắt đối chứng. Xem **FIG.12**.

Cấu trúc đồng tinh thể của VEGF_CKP9.54.90 trong phức chất với VEGF-A bộc lộ rằng các gốc axit amin tự nhiên trong các vòng 3 và 4 không cần thiết phải định hướng tối ưu để gắn kết với VEGF-A (xem **FIG. 9**) và có thể được cải biến để làm tăng sự tương tác của chúng với bề mặt VEGF-A hoặc để tạo ra sự tương tác nội phân tử trong peptit mà có thể cải thiện sự gấp nếp và tính ổn định của peptit. Do đó, với mục đích cải thiện thêm hiệu lực tập tính của các phân tử dẫn đầu, các thư viện thể thực khuẩn mới được tạo ra dựa trên các trình tự của 9.54, 54.1 và 9.63, 63.12 trong đó chỉ các vòng 3

và 4 được chọn ngẫu nhiên. Các khung cụ thể này, mặc dù hơi yếu hơn so với các phân tử dẫn đầu, được chọn để cho phép khoảng động lực đủ trong thử nghiệm này để phát hiện sự cải thiện về ái lực. Nhiều dòng vô tính mới chứa các biến thể trong các vòng 3 và 4 chỉ được nhận dạng là thể hiện sự gắn kết cải thiện với VEGF-A. Mười bốn trình tự thu được được chọn và ghép vào các vòng 3 và 4 trong các phân tử dẫn đầu VEGF_CKP9.54.90 hoặc VEGF_CKP9.63.12, và sau đó các phân tử hòa tan tương ứng được tạo ra ở dạng gấp nếp. Trình tự axit amin của mười bốn biến thể được làm thuần thục ái lực được nêu trong **Bảng 35** dưới đây.

Bảng 35: Các biến thể vòng 3/vòng 4 gắn kết với VEGF-A được làm thuần thục ái lực dựa trên các khung VEGF_CKP9.54.90 hoặc VEGF_CKP9.63.12

Biến thể	Vòng 1	Vòng 2	Vòng 3	Vòng 4	VÒNG 5
9.54.90.7	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	LQQ	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.10	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	VER	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.12	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	MSD	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.13	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	MNQ	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.25	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	MQT	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)

9.54.90.31	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	VYQ	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.44	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	FIN	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.53	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	VSQ	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.55	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	VTE	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.62	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	FYE	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.67	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	MEQ	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.54.90.71	NIMLPFWG (SEQ ID NO: 33)	GRDFE (SEQ ID NO: 97)	VYR	I	QYYQS (SEQ ID NO: 45)
9.63.12.8	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GPDID (SEQ ID NO: 118)	FVR	L	HWYNS (SEQ ID NO: 46)
9.63.12.12	DVMQPYWG (SEQ ID NO: 35)	GPDID (SEQ ID NO: 118)	LSN	I	HWYNS (SEQ ID NO: 46)

Tất cả các phân tử hòa tan chứa các biến thể L3/L4 thể hiện hiệu lực cải thiện trong thử nghiệm tế bào liên quan đến 54.90 hoặc 63.12.12. Ba phân tử dẫn đầu này, VEGF_CKP9.54.90.67, VEGF_CKP9.54.90.53 và VEGF_CKP9.63.12.12 có giá trị IC_{50} tế bào nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1 nM . Xem **FIG.13** và **Bảng 36** dưới đây.

Bảng 36: Giá trị IC_{50} đối với các biến thể trong Bảng 35

Biến thể	**IC_{50} tế bào (nM)**	**Số lần cải thiện liên quan đến biến thể 9.54.90**
9.54.90	1,35	1
9.54.90.12	1,20	1,125
9.54.90.13	0,96	1,41
9.54.90.25	1,26	1,07
9.54.90.44	1,16	1,16
9.54.90.62	0,92	1,47
9.54.90.67	1,10	1,23
9.63.12	1,83	0,74
9.63.12.8	N/D	
9.63.12.12	0,56	2,41

Cấu trúc đồng tinh thể của VEGF_CKP9.63 trong phức chất với VEGF-A bộc lộ rằng gốc Tyr ở vị trí 8 trong vòng 1 có thể tạo ra liên kết hydro với mạch bên của Gln22 trên VEGF-A. Xem **FIG.14**. Ở các biến thể thu được từ VEGF_CKP9.54 (như các biến thể trong **Bảng 35**) axit amin ở vị trí 8 là Phe. Do đó, chúng tôi đã cố gắng gây đột biến Phe8 thành Tyr I ở một số biến thể trong **Bảng 35**, với mục đích cải thiện ái lực và/hoặc tính tan của biến thể F8Y thu được. Sự đột biến F8Y thể hiện sự cải thiện vừa phải đối với ái lực / hiệu lực của một số phân tử (ví dụ, VEGF_CKP9.54.1.F8Y, VEGF_CKP9.54.90.F8Y, và VEGF_CKP9.54.90.67.F8Y), trong khi ở một vài trường

hợp khác nó thể hiện tác dụng âm tích tối thiểu hoặc nhẹ (ví dụ, VEGF_CKP9.54.90.13.F8Y và VEGF_CKP9.54.90.62.F8Y). Xem **Bảng 37**, trong đó ái lực gắn kết của các biến thể nhất định (như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt) được so sánh, và **Bảng 38** trong đó hiệu lực của các biến thể nhất định (như được xác định bởi IC_{50} tế bào) được so sánh. Sự thay thế F8Y giúp cải thiện tính tan của VEGF_CKP9.54.90.67.F8Y khoảng 2 mg/ml. VEGF_CKP9.54.90.67.F8Y được chọn đối với các thử nghiệm tiếp theo nữa.

Bảng 37: Động lực và ái lực gắn kết của VEGF_CKP9.54.1.F8Y, VEGF_CKP9.54.90.F8Y, VEGF_CKP9.54.90.67.F8Y, VEGF_CKP9.54.90.13.F8Y và VEGF_CKP9.54.90.62.F8Y đối với VEGF-A

Biến thể	**k_a**	**k_d**	**K_D**
VEGF_CKP9	1,2 ± 0,3	40 ± 20	5 ± 1 µM
VEGF_CKP9.54	3,4 ± 0,2	2,3 ± 0,8	44 ± 6 nM
VEGF_CKP9.54.1	15 ± 2	0,36 ± 0,17	2,2 ± 0,7 nM
VEGF_CKP9.54.1.F8Y	53 ± 12	0,38 ± 0,06	0,78 ± 0,11 nM
VEGF_CKP9.54.90	63 ± 16	0,17 ± 0,05	0,40 ± 0,08 nM
VEGF_CKP9.54.90.F8Y	70 ± 10	0,27 ± 0,01	0,40 ± 0,05 nM
VEGF_CKP9.54.90-Alkyn	50 ± 0,3	0,27 ± 0,004	0,49 ± 0,05 nM

Tính ổn định oxy hóa của các biến thể CKP khác nhau được thử nghiệm như sau: 5µL 11mM AAPH (Calbiochem danh mục số 100110) trong nước được bổ sung vào 50uL mẫu biến thể peptit (được điều chế là 1mg/mL peptit trong 20mM histidin axetat pH 5,5) và hỗn hợp này được ủ trong 16 giờ ở 40°C. Cuối quá trình ủ, mẫu được làm ngừng bằng cách bổ sung 27,5uL 40mM methionin, sau đó bổ sung 160ul 20mM Histidin axetat, 100mM sucroza ở pH 5,5 để pha loãng mẫu. Phản ứng này được phân tích bằng LC-MS.

Quan sát thấy rằng VEGF_CKP9.54.90 trải qua quá trình oxy hóa ~ 30% ở Met5 trong vòng 1. Sự thay thế Met 5 bằng axit amin không tự nhiên norleuxin làm cho

VEGF_CKP9.54.90 đề kháng hoàn toàn với quá trình oxy hóa. Sự thay thế Met5 bằng norleuxin cũng có tác dụng tốt đối với hiệu lực gắn kết (cải thiện ~ 2 lần). Các biến thể VEGF_CKP9.54.90.67 F8Y M5Nle, VEGF_CKP9.54.90.53 M5Nle và VEGF_CKP9.63.12.12 M5Nle được tạo ra. Tất cả ba Met5Nle của các biến thể Met5Nle thể hiện sự cải thiện vừa phải trong hiệu lực tế bào ~ 1,5 – 2 x so với các phân tử gốc của chúng.

Tiếp theo, tác dụng của việc thay thế axit amin nền naphtalen ở Trp9 trong vòng 1 của VEGF_CKP9.54.90 đối với ái lực gắn kết VEGF-A được đánh giá. Cấu trúc tinh thể của VEGF_CKP9.54.90 được kết hợp với VEGF chỉ ra rằng gốc Trp9 của VEGF_CKP9.54.90 (và các biến thể thu được từ đó) tương tác với bề mặt VEGF-A, với không gian gốc mà có thể cho phép hệ vòng rộng hơn để vừa trong đó. Để kiểm tra giả thiết này, chúng tôi tạo ra các biến thể hòa tan của VEGF_CKP9.54.90 trong đó vòng indol của Trp9 được thế bằng chất đồng dạng 1- hoặc 2-naphtyl. Các phân tử này thể hiện hiệu lực tế bào giảm liên quan đến VEGF_CKP9.54.90 gốc. Số liệu thêm về hiệu lực của các biến thể thu được từ VEGF_CKP9.54.90 gồm sự thay thế F8Y và/hoặc sự thay thế axit amin không tự nhiên được nêu trong **Bảng 38**:

Bảng 38: Giá trị IC_{50} đối với các biến thể thu được từ VEGF_CKP9.54.90 gồm sự thay thế F8Y và/hoặc sự thay thế axit amin không tự nhiên.

Biến thể	**IC_{50} tế bào (nM)**	**Số lần cải thiện liên quan đến biến thể 9.54.90**
9.54.90	1,35	1
9.54.90.F8Y	1,58	0,85
9.54.90.F7Y.Δ2G	3,01	0,44
9.54.90.M5.Nle	1,95	0,69
9.54.90.Naph1	5,42	0,24

9.54.90.Naph2	17,1	0,08
9.54.90.13	0,96	1,41
9.54.90.13.F8Y	2,02	0,67
9.54.90.62	0,92	1,47
9.54.90.62.F8Y	1,14	1,18
9.54.90.67	1,1	1,23
9.54.90.67.F8Y	0,66	2,05

Sự làm ngắn VEGF_CKP9.54.90. F8Y dẫn đầu bằng cách cắt hai gốc glyxin ở đầu tận cùng N và C để tạo thành biến thể VEGF_CKP9.54.90 F7Y Δ2G) dẫn đến giảm nhẹ hiệu lực tế bào liên quan đến VEGF_CKP9.54.90. Xem **Bảng 38** nêu trên.

Ví dụ 2B: Tạo các biến thể EETI-II không tồn tại tự nhiên gắn kết với VEGF-A gồm sự kéo dài axit amin đầu tận cùng C

Để nhận dạng các biến thể peptit khá với ái lực tăng đối với VEGF-A, chúng tôi đã chọn các phân tử 9.54 (SEQ ID NO: 52), 9.54.1 (SEQ ID NO: 99) và tạo ra các thư viện thể thực khuẩn mới dựa trên các khung này trong đó hai axit amin nữa được bổ sung vào đầu tận cùng C của chúng.

Từ thư viện 9.54, hai mươi hai dòng vô tính có tín hiệu gắn kết đối với hVEGF-A (8-109) cao hơn 3 lần so với BSA (nền) được nhận dạng (**Bảng 39**). Kết quả này có các thay đổi về thành phần axit amin trong vòng 2, trong các vòng 2 và 4, hoặc trong các vòng 2, 4, và 5.

Bảng 39: Các biến thể kéo dài hai gốc đầu tận cùng C dựa trên 9.54

ID dòng vô tính	**Trình tự axit amin**	**SEQ ID NO**
9.54	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG	52
9.54-28	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCICQYYQSCGFH	455

9.54-39	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCICQYYQSCGGE	457
9.54-10	GCNIMLPFWGCKQDSDCLVGCICQYYQSCGSI	458
9.54-32	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGGR	459
9.54-13	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGRP	460
9.54-6	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGQY	461
9.54-24	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGEN	462
9.54-34	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGDT	463
9.54-9	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGQH	464
9.54-12	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCICQYYQSCGQN	465
9.54-17	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGEE	466
9.54-19	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGDD	467
9.54-43	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGDG	468
9.54-5	GCNIMLPFWGCKQDFDCLAGCVCQYYQSCGLE	469
9.54-1	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGTD	470
9.54-4	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGSE	471
9.54-15	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGPE	472
9.54-42	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGTN	473
9.54-27	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGPH	474
9.54-2	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGMD	475
9.54-21	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCGSD	476

Từ thư viện 9.54.1, các dòng vô tính có tín hiệu gắn kết đối với hVEGF-A (8-109) cao hơn 3 lần so với BSA (nền) được nhận dạng (**Bảng 40**).

Bảng 40: Các biến thể kéo dài hai gốc đầu tận cùng C dựa trên 9.54.1

ID dòng vô tính	**Trình tự axit amin**	**SEQ ID NO**
9.54.1	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCVCQYYQSCG	99
9.54.1-2	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCICQYYQSCGIA	477
9.54.1-63	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCICQYYQSCGGS	478

9.54.1-36	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCICQYYQSCGTR	479
9.54.1-42	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCICQYYQSCGLS	533
9.54.1-90	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCICQYYQSCGVH	480

Dòng vô tính 9.54-28 (trong **Bảng 39**) thể hiện ái lực gắn kết cải thiện khoảng 10 lần đối với hVEGF-A (8-109) so với 9.54, như được xác định bởi ELISA cạnh tranh thể thực khuẩn (nêu trên). (Xem **FIG. 15**). Các dòng vô tính 9.54.1-2, 9.54.1-36, 9.54.1-42, 9.54.1-63, và 9.54.1-90 (trong **Bảng 40**) cũng thể hiện ái lực gắn kết cải thiện khoảng 10 lần đối với hVEGF-A (8-109) so với 9.54.1, như được xác định bởi ELISA cạnh tranh thể thực khuẩn. (xem **FIG. 15**).

Peptit 9.63 (SEQ ID NO: 55), và 9.63.44 (SEQ ID NO: 125) được chọn để cải thiện thêm như nêu trên. Các thư viện thể thực khuẩn mới dựa trên các khung này được tạo ra trong đó hai axit amin nữa được bổ sung vào đầu tận cùng C của chúng.

Từ thư viện 9.63, 28 dòng vô tính có tín hiệu gắn kết đối với hVEGF-A (8-109) cao hơn 3 lần so với BSA (nền) được nhận dạng (**Bảng 41**). Các kết quả này gồm sự thay đổi về thành phần axit amin trong các vòng 2 và 4.

Bảng 41: Các biến thể kéo dài hai gốc đầu tận cùng C dựa trên 9.63

ID dòng vô tính	**Trình tự axit amin**	**SEQ ID NO**
9.63	G**C**DVMQPYWG**C**KQDSD**C**LAG**C**V**C**HWYNS**C**G	55
9.63-1	G**C**DVMQPYWG**C**KQDFD**C**LAG**C**V**C**HWYNS**C**GPS	481
9.63-4	G**C**DVMQPYWG**C**EMDFD**C**LAG**C**I**C**HWYNS**C**GFS	482
9.63-7	G**C**DVMQPYWG**C**EMDFD**C**LAG**C**V**C**HWYNS**C**GGK	483
9.63-10	G**C**DVMQPYWG**C**KQDFD**C**LAG**C**I**C**HWYNS**C**GYL	484
9.63-16	G**C**DVMQPYWG**C**EMDFD**C**LAG**C**V**C**HWYNS**C**GDL	485
9.63-17	G**C**DVMQPYWG**C**EMDFD**C**LAG**C**V**C**HWYNS**C**GEK	486

9.63-19	GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCICHWYNSCGTD	487
9.63-20	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGQV	488
9.63-21	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGRL	489
9.63-22	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGYA	490
9.63-23	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGAS	491
9.63-25	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGSR	492
9.63-30	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGPT	493
9.63-36	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGSL	456
9.63-40	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGWD	494
9.63-45	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGSM	495
9.63-61	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGTR	496
9.63-62	GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCGEN	497
9.63-65	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGNN	498
9.63-66	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGPE	499
9.63-67	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGGI	500
9.63-68	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGVE	501
9.63-70	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGPL	503
9.63-72	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGTS	527
9.63-74	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGRP	504
9.63-77	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGND	505
9.63-79	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGLQ	506
9.63-93	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGDE	507

Từ thư viện 9.63.44, 17 dòng vô tính có các tín hiệu gắn kết đối với hVEGF-A (8-109) cao hơn 3 lần so với BSA (nền) được nhận dạng (**Bảng 42**). Các kết quả này gồm sự thay đổi về thành phần axit amin trong vòng 4. Dòng vô tính 9.63.44-55 gồm sự

thay đổi về thành phần axit amin trong vòng 2, và dòng vô tính 9.63.44-10 gồm sự thay đổi về thành phần axit amin trong vòng 3. Dòng vô tính đáng quan tâm 9.63.44-12 trong **Bảng 42** và dòng vô tính 9.63-70 trong Bảng 41 có cùng trình tự axit amin.

Bảng 42: Các biến thể kéo dài hai gốc đầu tận cùng C dựa trên 9.63.44

ID dòng vô tính	Trình tự axit amin	SEQ ID NO
9.63.44	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCG	125
9.63.44-2-A	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGRT	508
9.63.44-55	GCDVMQPYWGCEIDFDCLAGCVCHWYNSCGQV	509
9.63.44-10-A	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGGI	510
9.63.44-54	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGYM	511
9.63.44-19	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGGQ	512
9.63.44-44	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGTP	513
9.63.44-14	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGVN	514
9.63.44-73	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGFN	515
9.63.44-16	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGEP	516
9.63.44-80	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGNS	517
9.63.44-41	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGST	518
9.63.44-82	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGRY	519
9.63.44-1	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGFS	520
9.63.44-2	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGQV	521
9.63.44-3	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGYA	522
9.63.44-4	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGSR	523
9.63.44-5	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGPT	524

9.63.44-6	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGSM	525
9.63.44-7	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGGI	526
9.63.44-8	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGTS	527
9.63.44-9	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGLQ	528
9.63.44-10	GCDVMQPYWGCEMDFDCLVGCVCHWYNSCGDE	529
9.63.44-11	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGDL	530
9.63.44-12	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGPL	503
9.63.44-13	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCGQF	531
9.63.44-14	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCICHWYNSCGWK	532

Các dòng vô tính 9.63.44-1 cho đến 9.63.44-14 (trong **Bảng 42**) thể hiện ái lực gắn kết cải thiện đối với hVEGF-A (8-109) so với 9.63.44, như được xác định bởi ELISA cạnh tranh thể thực khuẩn. (Xem **FIG.16A** và **16B**).

Kết hợp với nhau, các kết quả nêu trên chỉ ra rằng việc kéo dài các peptit dẫn đầu 9.54 (SEQ ID NO: 52), 9.54.1 (SEQ ID NO: 99), 9.63 (SEQ ID NO: 55), và 9.63.44 bằng cách bổ sung hai axit amin vào đầu tận cùng C tạo ra các biến thể có ái lực gắn kết cao hơn ~10 lần đối với hVEGF-A (8-109).

Tiếp theo, peptit 9.54.90 (SEQ ID NO: 102) và 63.12.12.M5L (SEQ ID NO: 386) được chọn đối với các cải biến khác như nêu trên. Tóm lại, các thư viện thể thực khuẩn mới được tạo ra dựa trên 9.54.90 trong đó hai axit amin nữa, ba axit amin nữa, hoặc bốn axit amin nữa được bổ sung ở đầu tận cùng C. Tập hợp thư viện thứ hai được tạo ra dựa vào 63.12.12.M5L trong đó hai axit amin nữa được bổ sung ở đầu tận cùng C.

Từ các thư viện 9.54.90 gồm sự kéo dài 2 axit amin ở đầu tận cùng C, 6 dòng vô tính có các tín hiệu gắn kết đối với hVEGF-A (8-109) cao hơn 3 lần so với BSA (nền) được nhận dạng (**Bảng 43**).

Bảng 43: Các biến thể kéo dài hai gốc ở đầu tận cùng C dựa trên 9.54.90

ID dòng vô tính	Trình tự axit amin	SEQ ID NO
9.54.90	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG	102
9.54.90-2x28	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGFH	379
9.54.90-2x2	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGIA	380
9.54.90-2x63	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGGS	381
9.54.90-2x36	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGTR	382
9.54.90-2x90	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGVH	383
9.54.90-2x42	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGLS	384

Từ các thư viện 9.54.90 gồm sự kéo dài 3 axit amin ở đầu tận cùng C, 10 dòng vô tính có các tín hiệu gắn kết đối với hVEGF-A (8-109) cao hơn 3 lần so với BSA (nền) được nhận dạng (**Bảng 44**).

Bảng 44: Các biến thể kéo dài ba gốc ở đầu tận cùng C dựa trên 9.54.90

ID dòng vô tính	Trình tự axit amin	SEQ ID NO
9.54.90	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG	102
9.54.90-3X83	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPLI	369
9.54.90-3X50	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGNYQ	370
9.54.90-3x49	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPLQ	371
9.54.90-3x10	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGTFQ	372
9.54.90-3x91	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGDLV	373
9.54.90-3x42	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGEHK	374

9.54.90-3x88	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGYLS	375
9.54.90-3x9	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGWDY	376
9.54.90-3x13	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGWPH	377
9.54.90-3x33	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCGPHQ	378

Tất cả các peptit từ thư viện 9.54.90 gồm sự kéo dài 4 axit amin ở đầu tận cùng C, gồm sự kéo dài 3 axit amin ở đầu tận cùng C.

Từ thư viện 63.12.12.M5L gồm sự kéo dài 2 axit amin ở đầu tận cùng C, 9 dòng vô tính có các tín hiệu gắn kết đối với hVEGF-A (8-109) cao hơn 3 lần so với BSA (nền) được nhận dạng (**Bảng 45**).

Bảng 45: Các biến thể kéo dài hai gốc đầu tận cùng C dựa trên 63.12.12.M5L

ID dòng vô tính	**Trình tự axit amin**	**SEQ ID NO**
63.12.12.M5L	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG	386
63.12.12.M5L.2x2	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGRT	387
63.12.12.M5L.2x77	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGWK	388
63.12.12.M5L.2x48	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGPL	389
63.12.12.M5L.2x25	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGDE	390
63.12.12.M5L.2x69	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGQF	391

63.12.12.M5L.2x12	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGEQ	392
63.12.12.M5L.2x30	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGPT	393
63.12.12.M5L.2x21	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGRL	394
63.12.12.M5L.2x29	GCDVLQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCGSL	395

Ví dụ 2C: Xác định đặc tính của các biến thể EETI-II không tồn tại tự nhiên gắn kết VEGF gồm sự kéo dài axit amin đầu tận cùng C

Các biến thể được nêu trong các bảng **43-45** nêu trên được thử nghiệm bằng ELISA cạnh tranh thể thực khuẩn như nêu trên để nhận dạng các biến thể với ái lực liên kết lớn hơn đối với hVEGF-A (8-109).

Các dòng vô tính (ví dụ, như các dòng được nêu trong các bảng **39-45**) thể hiện ái lực lớn hơn đối với hVEGF (8-109), bao gồm, ví dụ, 9.54.1-2, 9.54.1-36, 9.54.1-42, 9.54.1-63, và 9.54.1-90, và 9.63.44-1 – 9.63.44-14, sau đó được chọn để đánh giá *in vitro* thêm, như hoạt tính ức chế trong ELISA cạnh tranh thể thực khuẩn và ELISA tương tác VEGF-KDR, như nêu trên.

Sau đó, các dòng được phân tích bằng cộng hưởng plasmon bề mặt để xác định ái lực của chúng đối với các đồng dạng VEGF khác nhau, bao gồm hVEGF-A (8-109), hVEGF-A 165, VEGF-A 164 chuột nhắt, VEGF-A chuột, và VEGF-A thỏ.

Sự phân tích thêm được thực hiện để đánh giá tính đặc hiệu của dòng vô tính đối với VEGF-A. Ví dụ, ELISA cạnh tranh được thực hiện như nêu trên với VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, PlGf-2, NGF, EGF, PDGF-β, hoặc IGF-1.

Các dòng vô tính cũng được thử nghiệm về khả năng của chúng ức chế hoạt tính trypsin proteaza như được xác định trong thử nghiệm tách chất nền peptit (Stanger et al. (2014) *FEBS Lett. 588* (23), 4487-96).

Động lực và ái lực gắn kết của các dòng vô tính đối với các đột biến hVEGF khác nhau, bao gồm, ví dụ, Y21A, K48A, Q89A, và F17A/M81A, được xác định như nêu trên.

Tiếp theo, các dòng vô tính được đánh giá về hiệu lực *in vivo* của chúng trong mô hình định hướng VEGF-A của tân mạch hắc mạc, như nêu trên.

Tính ổn định oxy hóa của các biến thể được thử nghiệm như nêu trên.

Ví dụ 3: Tạo các biến thể EETI-II không tồn tại tự nhiên mà gắn kết LRP6

Các thư viện EETI-II chưa quen thử nghiệm được mô tả trong Ví dụ 2A được tuần hoàn qua các chu kỳ chọn lọc kháng protein LRP6 E1E2. Hai mươi hai dòng vô tính duy nhất được nhận dạng mà gắn kết với LRP6 E1E2 (**Bảng 46**). Các kết quả ban đầu này gồm sự thay đổi về hàm lượng axit amin trong các vòng 1 và 5. Ở một vài biến thể, vòng 1 thể hiện chiều dài lớn hơn so với khung EETI-II tự nhiên. Đáng chú ý là, các trình tự mới được tạo ra mà gắn kết với LRP6 gồm kiểu liên ứng trong Vòng 1 (**NXI**) mà giống với kiểu (NAI) có mặt trong các phân tử Dkk1 tự nhiên mà là các phối tử LRP6 nội sinh. Các biến thể mới được tạo ra thâu tóm kiểu mà xuất hiện ở các phối tử tự nhiên.

Bảng 46: Chất gắn kết trên cơ sở EETI-II kháng LRP6 E1E2

Biến thể	**Vòng 1**	**Vòng 5**	**ELISA**	**S/N***
LRP6_CKP1	RTNRVKGG (SEQ ID NO: 147)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)	3,23	45,49
LRP6_CKP2	VNRVRG (SEQ ID NO: 148)	SGGRD (SEQ ID NO: 169)	3,41	41,62
LRP6_CKP3	MNHVKARR (SEQ ID NO: 149)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)	2,93	40,18
LRP6_CKP4	RSVNKI (SEQ ID NO: 150)	GSSRN (SEQ ID NO: 170)	2,82	25,39
LRP6_CKP5	VNKIKG (SEQ ID NO: 151)	GVEGR (SEQ ID NO: 171)	3,04	35,71

LRP6_CKP6	RNSIKR (SEQ ID NO: 152)	SVGHG (SEQ ID NO: 172)	3,10	37,36
LRP6_CKP7	VSNRVNKG (SEQ ID NO: 153)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)	3,30	28,96
LRP6_CKP8	RGNIIK (SEQ ID NO: 154)	NESRG (SEQ ID NO: 173)	3,23	37,56
LRP6_CKP9	RSGNTIRKRE (SEQ ID NO: 155)	GGPGG (SEQ ID NO: 174)	2,97	37,62
LRP6_CKP10	ASSNSIRQGW (SEQ ID NO: 156)	GPKSN (SEQ ID NO: 175)	3,29	37,38
LRP6_CKP11	RSNRIR (SEQ ID NO: 157)	YGHGD (SEQ ID NO: 176)	2,65	36,76
LRP6_CKP12	RSNKLREARG (SEQ ID NO: 158)	GSRQD (SEQ ID NO: 177)	0,60	6,78
LRP6_CKP13	VNSVKR (SEQ ID NO: 159)	SRGVN (SEQ ID NO: 178)	3,28	37,75
LRP6_CKP14	GSNKIRPR (SEQ ID NO: 160)	GPNDF (SEQ ID NO: 179)	3,18	43,53
LRP6_CKP15	NRIRNS (SEQ ID NO: 161)	GRGDY (SEQ ID NO: 180)	2,03	26,31
LRP6_CKP16	SRNSIK (SEQ ID NO: 162)	ASGSS (SEQ ID NO: 181)	3,36	31,11
LRP6_CKP17	SNYVKR (SEQ ID NO: 163)	SPGGR (SEQ ID NO: 182)	3,09	35,88
LRP6_CKP18	RANRVSGR (SEQ ID NO: 164)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)	1,67	18,32
LRP6_CKP19	SNRVKVRA (SEQ ID NO: 165)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)	3,27	41,96

LRP6_CKP20	ENRTKG (SEQ ID NO: 166)	GFRGT (SEQ ID NO: 183)	3,10	38,69
LRP6_CKP21	GNKIRA (SEQ ID NO: 167)	RDRVG (SEQ ID NO: 184)	2,80	33,69
LRP6_CKP22	ANRVKRTS (SEQ ID NO: 168)	GPNGF (SEQ ID NO: 19)	3,43	42,86

*S/N = tín hiệu đối với tỷ lệ nhiễu so với đối chứng BSA

Vùng ngoại bào của LRP6 gồm bốn vùng cánh quạt (E1-E4) mà tương tác với các thụ thể Frizzled và protein Wnt để truyền tín hiệu Wnt. Sử dụng cách tiếp cận môđun, LRP6 phân biệt giữa tín hiệu Wnt1 hoặc Wnt3a thông qua sự gắn kết chọn lọc của các vùng E1-E2 hoặc E3-E4 của nó lần lượt với các đồng dạng Wnt đặc hiệu (Hannoush et al. (2010) *J. Biol. Chem.* 285, 9172-9179). Để mô tả về mặt dược lý các nhánh tín hiệu Wnt1 và Wnt3a, chúng tôi đã cố gắng nhận dạng các phối tử mà gắn kết chọn lọc với LRP6 E1-E2.

Trong các trình tự được nhận dạng, R1, LRP6_CKP6 và LRP6_CKP19 được tạo ra ở dạng gấp nếp hòa tan để kiểm tra hoạt tính dược lý kháng tín hiệu Wnt1 hoặc Wnt3a. Như được nêu trong các bảng **47** và **48** dưới đây, không quan sát thấy tính chọn lọc đáng kể bởi R77 hướng đến Wnt1 hoặc Wnt3a trong thử nghiệm báo cáo tín hiệu dựa trên tế bào. Mặt khác, R1 và R19 thể hiện sự ức chế chọn lọc đối với tín hiệu Wnt1 liên quan đến Wnt3a (lần lượt là 160 lần và 11 lần đối với Wnt1 so với Wnt3a) như được xác định trong thử nghiệm báo cáo luciferaza, hỗ trợ khái niệm rằng các biến thể này không nhắm đích các vùng E3-E4 của LRP6 (IC_{50} > 44 μM). Nói chung, số liệu làm nổi bật tính đặc hiệu của các biến thể mới được tạo ra và tác dụng của chúng trong việc bắt chước kiểu mà xuất hiện ở các phối tử tự nhiên. Quan trọng hơn, các biến thể được nhận dạng đem lại ý nghĩa về mặt dược lý để khảo sát tín hiệu Wnt1 và Wnt3.

Bảng 47: Hoạt tính ức chế của các biến thể CKP gắn kết với LRP6 kháng tín hiệu Wnt1

Lrp6-CKP (n=4)	**IC_{50} thích hợp nhất (nM) đối với Wnt1 (5ng/lỗ)**	**Khoảng tin cậy 95% (nM)**
R1 F1	241,7	185,8 đến 314,5
R1 F2	193,8	140,1 đến 268,2
LRP6_CKP6 F1	22.866	13.593 đến 38.463
LRP6_CKP6 F2	23.760	14.458 đến 39.046
LRP6_CKP6 F3	4.625	3.037 đến 7.044
LRP6_CKP19 F1	23.132	15.397 đến 34.754
LRP6_CKP19 F2	49.330	31.391 đến 77.520

Bảng 48: Hoạt tính ức chế của các biến thể CKP gắn kết với LRP6 kháng tín hiệu Wnt3a

Lrp6-CKP (n=4)	**IC_{50} thích hợp nhất (nM) đối với Wnt3a (25ng/lỗ)**	**Khoảng tin cậy 95% (nM)**
R1 F1	38.594	16.093 đến 92.554
R1 F2	16.596	9.037 đến 30.478
LRP6_CKP6 F1	350.240	11840 đến $1,036x10^7$
LRP6_CKP6 F2	275.584	24.695 đến $3,075x10^6$
LRP6_CKP6 F3	Không đồng quy	Không đồng quy
LRP6_CKP19 F1	59.287	32.600 đến 107.823
LRP6_CKP19 F2	69.827	26.179 đến 186.252

F1, F2, và F3 trong các bảng **47** và **48** lần lượt đề cập đến các phân đoạn đỉnh 1, 2, và 3, thu được trong quá trình tinh chế R1, LRP6_CKP6, và LRP6_CKP19.

Các ví dụ trước được đưa ra chỉ để minh họa, và không được dự định là giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ. Các cải biến khác nhau của sáng chế ngoài các phần được thể hiện và được mô tả ở đây sẽ trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này từ phần mô tả nêu trên và nằm trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ kèm theo.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Peptit gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (vascular endothelial growth factor A : VEGF-A) và chứa cấu trúc khung:

$$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2$$

trong đó:

Z_1 tương ứng với đầu tận cùng N của peptit và được chọn từ nhóm bao gồm: G, phi axit amin, và X, trong đó X là axetylglyxin hoặc PEG_6-propargylglyxin;

Z_2 tương ứng với đầu tận cùng C của peptit và được chọn từ nhóm bao gồm: G, phi axit amin, L-serin, D-serin, X, trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm: L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl-glyxin, glyxin chứa nhóm carboxyl được amit hóa, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của oxetan-3-yl, glyxin amit, và glyxin morpholin amit, GFH, GIA, GGS, GTR, GVH, GLS và các axit amin 30-33 của trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 369-378;

C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, và C_6 là các gốc xystein; và

L1 là vòng 1, L2 là vòng 2, L3 là vòng 3, L4 là vòng 4, và L5 là vòng 5;

trong đó

L1 được chọn từ nhóm bao gồm: các SEQ ID NO: 33, 141, 143, 212, 213, 277, 396-404, 414, 416, 433, 434, và các axit amin 3 đến 10 của SEQ ID NO: 548;

L2 được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 97, 418, và các axit amin 12-16 của các SEQ ID NO: 538, 539, 540, và 541;

L3 được chọn từ nhóm bao gồm: LAG, LQQ, VER, MSD, MNQ, MQT, VYQ, FIN, VSQ, VTE, FYE, MEQ, LEQ, VYR, VSD, VSE, VSK, VSN, VSX trong đó X là ornithin, LAK, MED, MEE, MEK, MEN, và MEX trong đó X là ornithin, LAX trong đó X là ornithin, LSG, LTG, LEG, và XAG trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm: t-butyl-*L*-alanin, xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, và 5,5,5-triflo-L-leuxin, và XEQ trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm: norleuxin, t-butyl-L-alanin, và xyclobutyl-L-alanin;

L4 được chọn từ nhóm bao gồm: V, L, I, và X trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm: norleuxin, butyl-L-glyxin, t-butyl-L-alanin, L-xyclopentylglyxin, xyclopentyl-L-alanin, xyclobutyl-L-glyxin, xyclobutyl-L-alanin, và 5,5,5-triflo-L-leuxin; và

L5 được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 45, 220, 427, và 429; và

trong đó C_1 tạo thành liên kết disulfua với C_4, C_2 tạo thành liên kết disulfua với C_3, và C_5 tạo thành liên kết disulfua với C_6.

2. Peptit theo điểm 1, trong đó:

(a) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 33;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là LAG, LQQ, VER, MSD, MNQ, MQT, VYQ, FIN, VSQ, VTE, FYE, MEQ, hoặc VYR;

L4 là I; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(b) Z1 và Z2 là G;

L1 được chọn từ nhóm bao gồm: các SEQ ID NO: 33, 277, và 396-403;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là LAG;

L4 là V; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(c) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 404;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là LAG;

L4 là V; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(d) Z1 là G, phi axit amin, hoặc X, trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm axetylglyxin và PEG_6-propargylglyxin;

Z2 là G hoặc phi axit amin;

L1 là SEQ ID NO: 33, 141, 212 hoặc 414;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là LAG;

L4 là V; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(e) Z1 và Z2 là G;
L1 là SEQ ID NO: 213 hoặc 416;
L2 là SEQ ID NO: 97;
L3 là LAG;
L4 là V; và
L5 là SEQ ID NO: 45;

(f) Z1 và Z2 là G;
L1 là SEQ ID NO: 141,
L2 là SEQ ID NO: 418;
L3 là LAG;
L4 là V; và
L5 là SEQ ID NO: 45;

(g) Z1 và Z2 là G;
L1 là SEQ ID NO: 141,
L2 là SEQ ID NO: 97;
L3 là LAK, LAX trong đó X là ornithin, hoặc XAG trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm: t-butyl-L-alanin, xyclobutyl-L-alanin, xyclopentyl-L-alanin, và 5,5,5-triflo-L-leuxin;
L4 là V; và
L5 là SEQ ID NO: 45;

(h) Z1 và Z2 là G;
L1 là SEQ ID NO: 33;
L2 là SEQ ID NO: 97;
L3 là LSG, LTG, hoặc LEG;
L4 là V; và
L5 là SEQ ID NO: 45;

(i) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 141;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là LAG;

L4 là L, I, hoặc X trong đó X là axit amin không tự nhiên được chọn từ nhóm bao gồm: butyl-L-glyxin, t-butyl-L-alanin, L-xyclopentylglyxin, xyclopentyl-L-alanin, L-xyclobutyl-L-glyxin, xyclobutyl-L-alanin, và 5,5,5-triflo-L-leuxin; và L5 là SEQ ID NO: 45;

(j) Z1 là G;

Z2 là G, S, hoặc X, trong đó X là D-serin, là L-beta-homoserin, hoặc L-beta-alanin;

L1 là SEQ ID NO: 141;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là LAG;

L4 là V và

L5 là SEQ ID NO: 220, 427, hoặc 429;

(k) Z1 là G;

Z2 là X, trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm: L-serin, D-serin, L-beta-homoserin, L-beta-alanin, N-alpha-metyl-glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol, este glyxin của glycol, este glyxin của rượu oxetan-3-yl, hoặc glyxin morpholin amit;

L1 là SEQ ID NO: 141,

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là LAG;

L4 là V; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(l) Z1 là G;

Z2 là các axit amin 30-33 của trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 369-378;

L1 là SEQ ID NO: 33;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là LAG;

L4 là V; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(m) Z1 là G;

Z2 là các axit amin 30-32 của trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 379-384;

L1 là SEQ ID NO: 33;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là LAG;

L4 là V; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(n) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 33, 141, 143, 397, hoặc 433;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là MEQ;

L4 là I; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(o) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 143 hoặc 433;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là LEQ hoặc XEQ trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm: norleuxin và xyclobutyl-L-alanin;

L4 là I hoặc X trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm: xyclobutyl-L-glyxin, xyclobutyl-L-alanin và norleuxin; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(p) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 397;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là MEQ hoặc XEQ, trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm: xyclobutyl-L-alanin và t-butyl-L-alanin;

L4 là I hoặc X, trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm: xyclobutyl-L-glyxin, và xyclobutyl-L-alanin; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(q) Z1 là X, trong đó X là axetylglyxin;

Z2 là X, trong đó X là glyxin amit;

L1 là SEQ ID NO: 143, 397 hoặc 434;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là MEQ hoặc LEQ;

L4 là I; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(r) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 33, 396, hoặc các axit amin 3 đến 10 của SEQ ID NO: 548;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là VSQ;

L4 là I; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(s) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 141, 143, hoặc 277;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là MSD, MNQ, FYE, hoặc VSQ;

L4 là I; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(t) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 143;

L2 là SEQ ID NO: 97, các axit amin 12-16 của SEQ ID NO: 538, hoặc các axit amin 12-16 của SEQ ID NO: 539;

L3 là MED, MEE, MEK, MEN, và MEX trong đó X là ornithin;

L4 là I; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

(u) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 277;

L2 là SEQ ID NO: 97, các axit amin 12-16 của SEQ ID NO: 540, hoặc các axit amin 12-16 của SEQ ID NO: 541;

L3 là VSD, VSE, VSK, VSN, hoặc VSX trong đó X là ornithin;

L4 là I; và

L5 là SEQ ID NO: 45;

hoặc

(v) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 433;

L2 là SEQ ID NO: 97;

L3 là XEQ trong đó X là norleuxin;

L4 là I; và

L5 là SEQ ID NO: 45.

3. Peptit chứa trình tự axit amin được nêu trong trình tự bất kỳ trong số các trình tự:

(a) các SEQ ID NO: 103-114;

(b) các SEQ ID NO: 102, và 218, 405-412;

(c) SEQ ID NO: 413;

(d) các SEQ ID NO: 216, 217, 221, 361, 362, và 415;

(e) SEQ ID NO: 219 hoặc 417;

(f) SEQ ID NO: 419;

(g) các SEQ ID NO: 420, 542, và 568;

(h) các SEQ ID NO: 421-423;

(i) các SEQ ID NO: 424-426;

(j) SEQ ID NO: 428 hoặc 430;

(k) SEQ ID NO: 431 hoặc 432;

(l) các SEQ ID NO: 369-378;

(m) các SEQ ID NO: 379-384;

(n) các SEQ ID NO: 113, 142, 146, 435, và 436;

(o) các SEQ ID NO: 437-440;

(p) SEQ ID NO: 441 hoặc 442;

(q) các SEQ ID NO: 443-446;

(r) các SEQ ID NO: 110, 547, và 548;

(s) các SEQ ID NO: 144-145, 222-223, và 365;

(t) các SEQ ID NO: 538-539, 543-544, và 555-560;

(u) các SEQ ID NO: 540-541, 545-546, và 561-566;

(v) các SEQ ID NO: 55, 122-126, và 340-357;

(w) các SEQ ID NO: 135-137;

(x) các SEQ ID NO: 123, 139, 140, và 224;

(y) các SEQ ID NO: 386-395;

(z) các SEQ ID NO: 224 và 447-450;

(aa) các SEQ ID NO: 451-453;

(bb) các SEQ ID NO: 534-537 và 549-554;

(cc) các SEQ ID NO: 456, 481-501, 503-507, và 527; hoặc

(dd) các SEQ ID NO: 508-532.

4. Peptit theo điểm 3, trong đó peptit này chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm:

GCNIMLPFWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 113),

GCNIMLPFWGCGRDFECVYRCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 114),

GCDVMQPYWGCGPDIDCFVRCLCHWYNSCG (SEQ ID NO: 139),

GCDVMQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 140),

GCNIMLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 142),

GCNIXLPFWGCGRDFECMSDCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 144), trong đó X là norleuxin (Nle),

GCNIXLPFWGCGRDFECVSQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 145), trong đó X là norleuxin (Nle),
GCNIXLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 146), trong đó X là norleuxin (Nle),
GCDVXQPYWGCGPDIDCLSNCICHWYNSCG (SEQ ID NO: 224), trong đó X là norleuxin, và
GCNILLPYWGCGRDFECMEQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 435).

5. Peptit theo điểm 3, trong đó peptit này chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm:
GCDVX_1QPYWGCGPDI-D/E-CLS-N/K/X_2-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 534),
GCDVX_1QPYWGCGPDI-N/K/X_2-CLS-D/E-CICHWYNSCG (SEQ ID NO: 535),
GCNIX_1LPYWGCGRDF-D/E-CME-N/K/X_2-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 538),
GCNIX_1LPYWGCGRDF-N/K/X_2-CME-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 539),
GCNIX_1LPFWGCGRDF-D/E-CVS-N/K/X_2-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 540),
GCNIX_1LPFWGCGRDF-N/K/X_2-CVS-D/E-CICQYYQSCG (SEQ ID NO: 541), trong đó X_1 là norleuxin và X_2 là ornithin, và
GCNIX_1LPYWGCGRDFECX_2EQCICQYYQSCG (SEQ ID NO: 437), trong đó X_1 và X_2 đều là norleuxin.

6. Peptit gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu A (VEGF-A), và chứa cấu trúc khung:

$$Z_1C_1L1C_2L2C_3L3C_4L4C_5L5C_6Z_2$$

trong đó:

Z1 tương ứng với đầu tận cùng N của peptit và được chọn từ nhóm bao gồm: G hoặc X, trong đó X là axit amin không tự nhiên axetylglyxin;

Z2 tương ứng với đầu tận cùng C của peptit và được chọn từ nhóm bao gồm: G, các axit amin 30-32 của trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 387-395, 481-501, và 503-532; và X trong đó X là axit amin không tự nhiên glyxin amit;

C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, và C_6 là các gốc xystein; và

L1 là vòng 1, L2 là vòng 2, L3 là vòng 3, L4 là vòng 4, và L5 là vòng 5;

trong đó

L1 được chọn từ nhóm bao gồm: các SEQ ID NO: 35, 127, 128, 129, 214, và 385;

L2 được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 93, 117-120, 211, 322-339, và các axit amin 12-16 của trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 481, 509, 534-537 và 549-554;

L3 được chọn từ nhóm bao gồm: LAG, FVR, LSN, XSN trong đó X là axit amin không tự nhiên xyclobutyl-L-alanin hoặc t-butyl-L-alanin, và các axit amin 18-20 của trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 529, 534-537 và 549-554.

L4 được chọn từ nhóm bao gồm: V, L, I, X trong đó X là axit amin không tự nhiên xyclobutyl-L-glyxin hoặc xyclobutyl-L-alanin; và

L5 được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 46, 121, 132, và 133; và

trong đó C_1 tạo thành liên kết disulfua với C_4, C_2 tạo thành liên kết disulfua với C_3, và C_5 tạo thành liên kết disulfua với C_6.

7. Peptit theo điểm 6, trong đó:

(a) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 35;

L2 là trình tự được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 93, 117-120, 211, và 322-339;

L3 là LAG;

L4 là V; và

L5 là SEQ ID NO: 46;

(b) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 127, 128, hoặc 129;

L2 là SEQ ID NO: 93;

L3 là LAG;

L4 là V; và

L5 là SEQ ID NO: 131, 132, hoặc 133;

(c) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 35 hoặc 214, trong đó X là norleuxin;

L2 là SEQ ID NO: 118

L3 là LAG, FVR, hoặc LSN;

L4 là V, L, hoặc I; và

L5 là SEQ ID NO: 46;

(d) Z1 là G;

Z2 là G hoặc các axit amin 30-32 của trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 387-395

L1 là SEQ ID NO: 385;

L2 là SEQ ID NO: 118;

L3 là LSN;

L4 là I; và

L5 là SEQ ID NO: 46;

(e) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 214 hoặc SEQ ID NO: 385;

L2 là SEQ ID NO: 118;

L3 là LSN hoặc XSN, trong đó X là xyclobutyl-L-alanin hoặc t-butyl-L-alanin;

L4 là I hoặc X, trong đó X là xyclobutyl-L-glyxin hoặc xyclobutyl-L-alanin; và

L5 là SEQ ID NO: 46;

(f) Z1 là G hoặc X, trong đó X là axetylglyxin;

Z2 là G hoặc glyxin amit;

L1 là SEQ ID NO: 214 hoặc SEQ ID NO: 385;

L2 là SEQ ID NO: 118;

L3 là LSN hoặc XSN, trong đó X là xyclobutyl-L-alanin;

L4 là I hoặc X, trong đó X là xyclobutyl-L-glyxin hoặc xyclobutyl-L-alanin; và

L5 là SEQ ID NO: 46;

(g) Z1 và Z2 là G;

L1 là SEQ ID NO: 214, trong đó X là norleuxin;

L2 là SEQ ID NO: 118 hoặc các axit amin 12-16 của trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 534-537 và 549-554;

L3 là các axit amin 18-20 của trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 534-537 và 549-554;

L4 là I; và

L5 là SEQ ID NO: 46;

(h) Z1 là G;

Z2 là G hoặc các axit amin 30-32 của trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 481-501, 503-507, và 527;

L1 là SEQ ID NO: 35;

L2 là SEQ ID NO: 93, 120, hoặc các axit amin 12-16 của SEQ ID NO: 481;

L3 là LAG;

L4 là V hoặc I; và

L5 là SEQ ID NO: 46;

hoặc

(i) Z1 là G;

Z2 là G hoặc các axit amin 30-32 của trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 503 và 508-532;

L1 là SEQ ID NO: 35;

L2 là SEQ ID NO: 120 hoặc các axit amin 12-16 của SEQ ID NO: 509;

L3 là LAG hoặc các axit amin 18-20 của SEQ ID NO: 529;

L4 là V hoặc I; và

L5 là SEQ ID NO: 46.

8. Peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó:

(a) nhóm carboxyl đầu tận cùng C của peptit bị chặn;

(b) amin đầu tận cùng N của peptit bị chặn; hoặc

(c) nhóm carboxyl đầu tận cùng C và amin đầu tận cùng N của peptit bị chặn.

9. Peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó peptit này ức chế hoạt tính của VEGF-A.

10. Peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó peptit này được tiếp hợp với chất điều trị.

11. Peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó peptit này được tiếp hợp với chất đánh dấu, tùy ý trong đó chất đánh dấu này là đồng vị phóng xạ, thuốc nhuộm huỳnh quang, hoặc enzym.

12. Axit nucleic phân lập mã hóa peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9.

13. Vectơ biểu hiện chứa axit nucleic theo điểm 12.

14. Tế bào chứa vectơ biểu hiện theo điểm 13.

15. Phương pháp sản xuất peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, bao gồm bước nuôi cấy tế bào theo điểm 14 và thu hồi peptit được biểu hiện bởi tế bào này từ môi trường nuôi cấy tế bào.

16. Phương pháp sản xuất peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, bao gồm bước tổng hợp hóa học peptit này.

17. Dược phẩm chứa peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10 và chất mang dược dụng.

18. Chế phẩm chứa peptit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10 và PLGA, tùy ý trong đó PLGA là que PLGA.

(SEQ ID NO: 1) G C P R I L M R C K Q D S D C L A G - C V C G P N G F C G

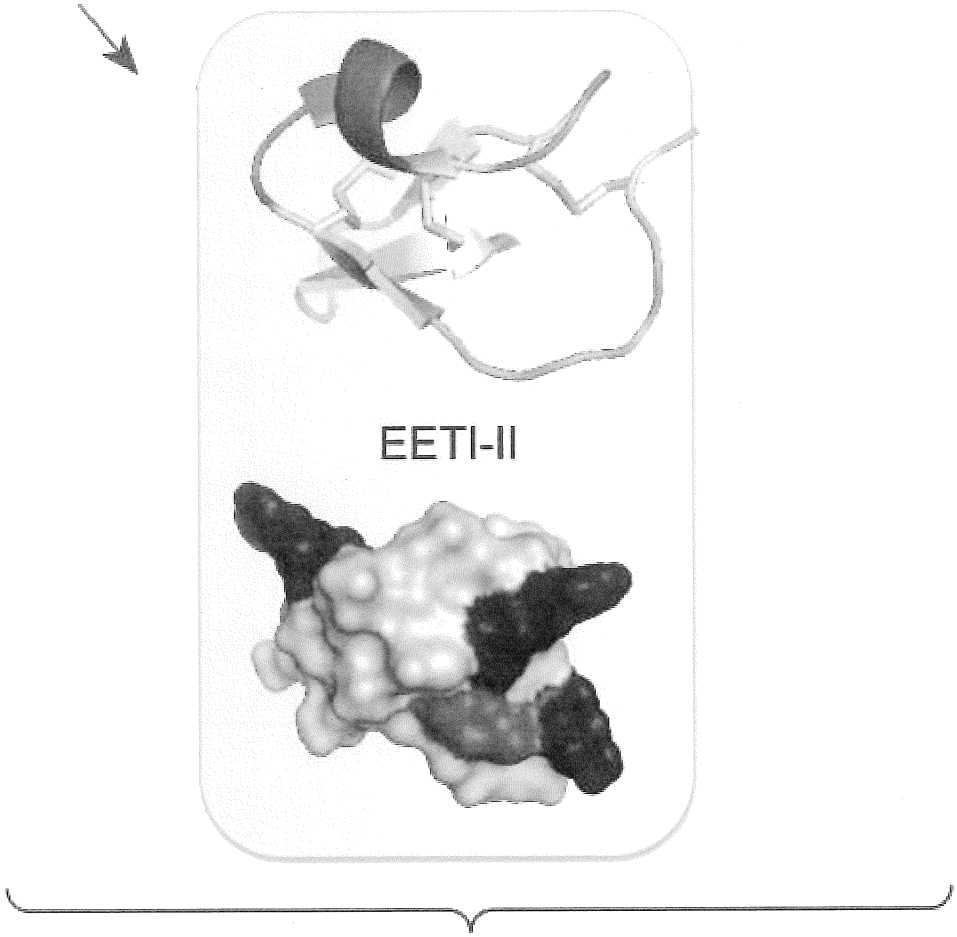


FIG. 1

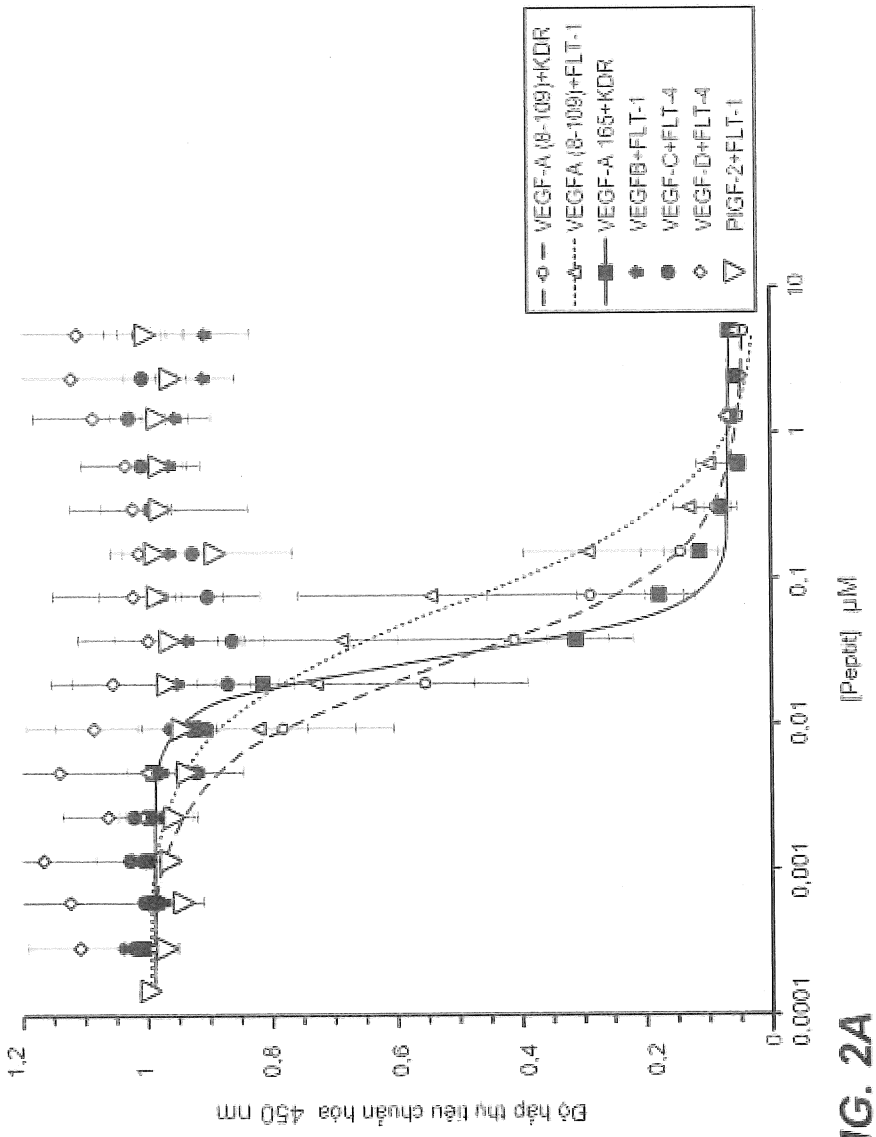

VEGF-A (8-109)+KDR
VEGFA (8-109)+FLT-1
VEGF-A 165+KDR
VEGFB+FLT-1
VEGF-C+FLT-4
VEGF-D+FLT-4
PlGF-2+FLT-1
Độ hấp thụ tiêu chuẩn hóa 450 nm
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
0.0001
0,001
0,01
0,1
1
10
[Peptit] µM

FIG. 2A

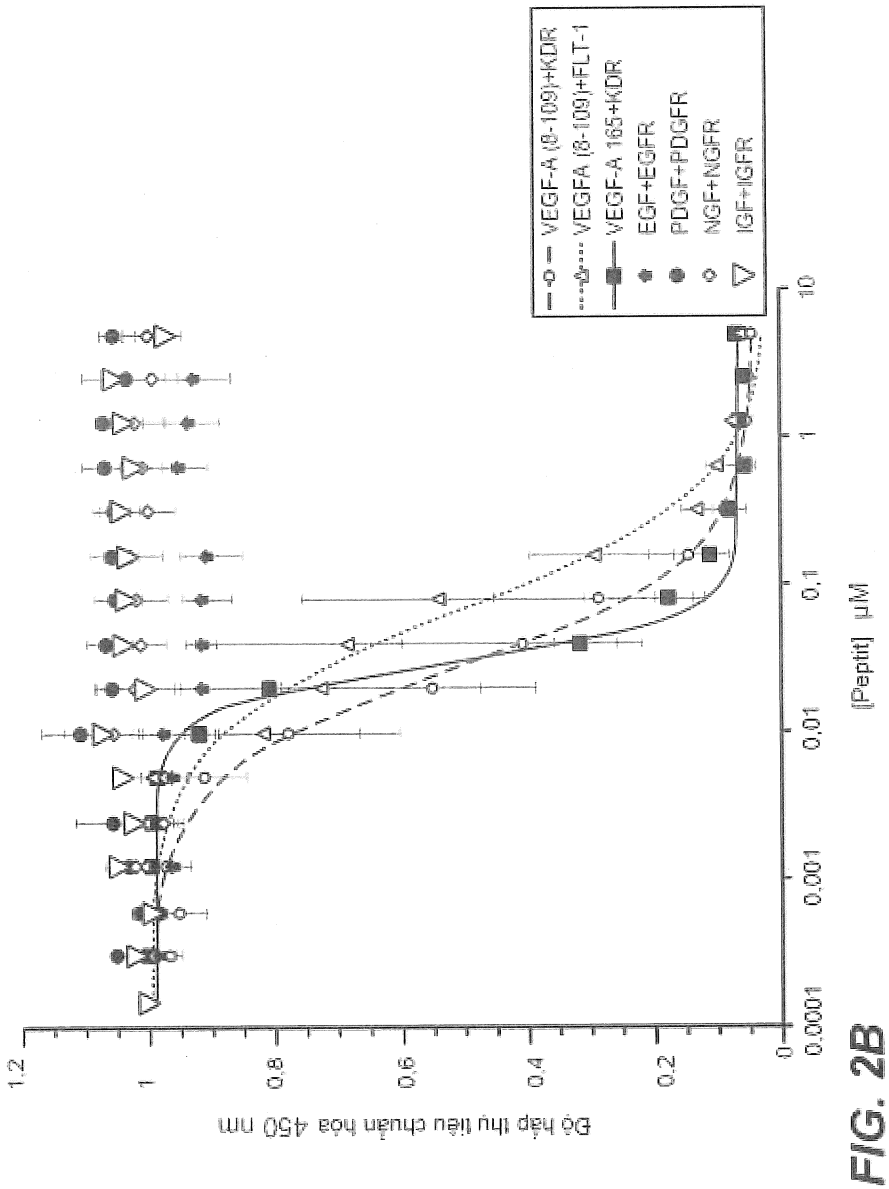

VEGF-A (8-109)+KDR
VEGFA (8-109)+FLT-1
VEGF-A 165+KDR
EGF+EGFR
PDGF+PDGFR
NGF+NGFR
IGF+IGFR
Độ hấp thụ tiêu chuẩn hóa 450 nm
[Peptit] µM
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10

FIG. 2B

CKP	Vòng 1	Vòng 2	Vòng 5	
WT EETI	GCPRILMR	CKQDSDCLAGCVCGPNGFCG		SEQ ID NO: 1
E9	GCQLMQPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG			SEQ ID NO: 23
EM54	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG			SEQ ID NO: 52
V_L2.9.54.90	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG			SEQ ID NO: 102

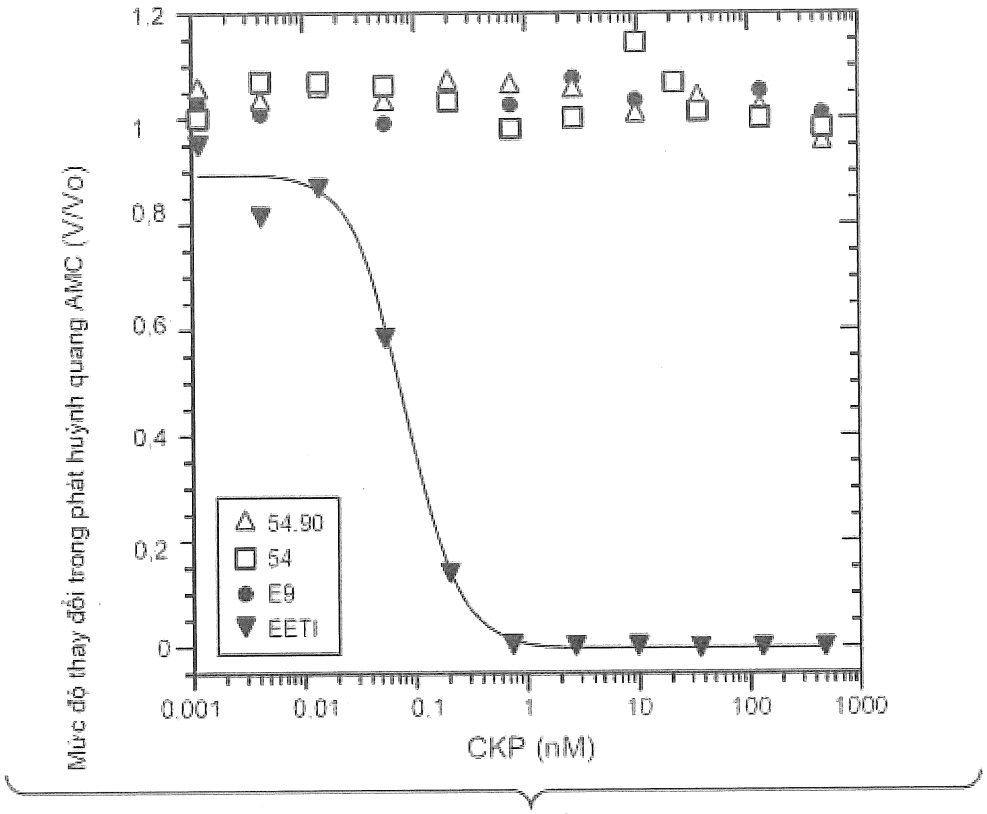
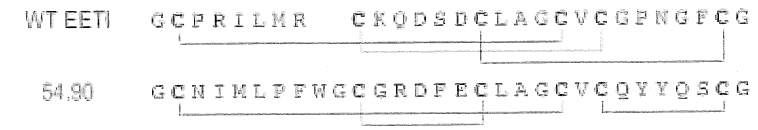


FIG. 3

5/18



CKP	Vòng 1	Vòng 2	Vòng 5	
E9	GCQLNQPFWGCKQDSDCLAGCVCHWYQSCG			SEQ ID NO: 23
EM54	GCNIMLPFWGCKQDSDCLAGCVCQYYQSCG			SEQ ID NO: 52
* V_L2.9.54.1	GCNIMLPFWGCGQSFECLAGCVCQYYQSCG			SEQ ID NO: 99
V_L2.9.54.90	GCNIMLPFWGCGRDFECLAGCVCQYYQSCG			SEQ ID NO: 102
EM63	GCDVMQPYWGCKQDSDCLAGCVCHWYNSCG			SEQ ID NO: 55
* V_L2.9.63.1	GCDVMQPYWGCGENFLCLAGCVCHWYNSCG			SEQ ID NO: 122
* V_L2.9.63.44	GCDVMQPYWGCEMDFDCLAGCVCHWYNSCG			SEQ ID NO: 125
* V_L2.9.63.12	GCDVNQPYWGCGPDIDCLAGCVCHWYNSCG			SEQ ID NO: 123

* : Không có vị trí cắt trypsin

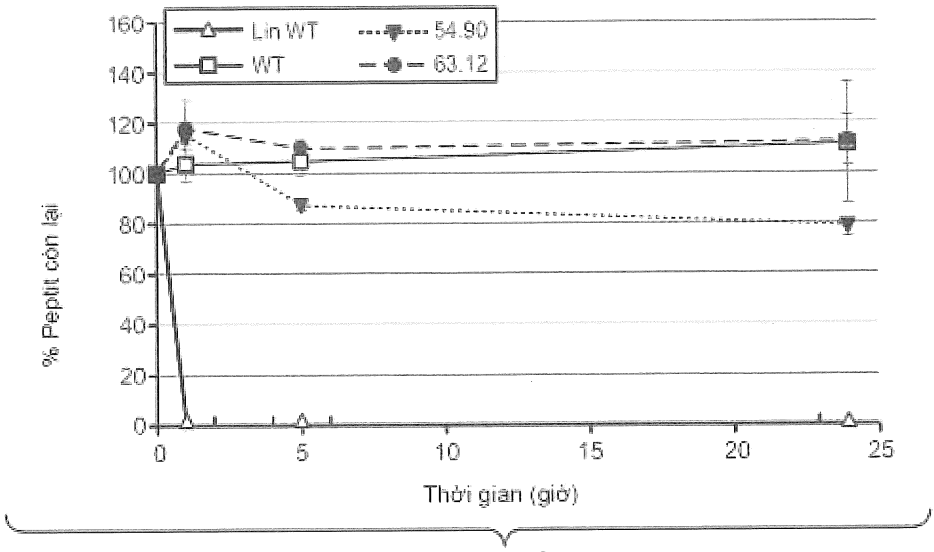


FIG. 4

6/18

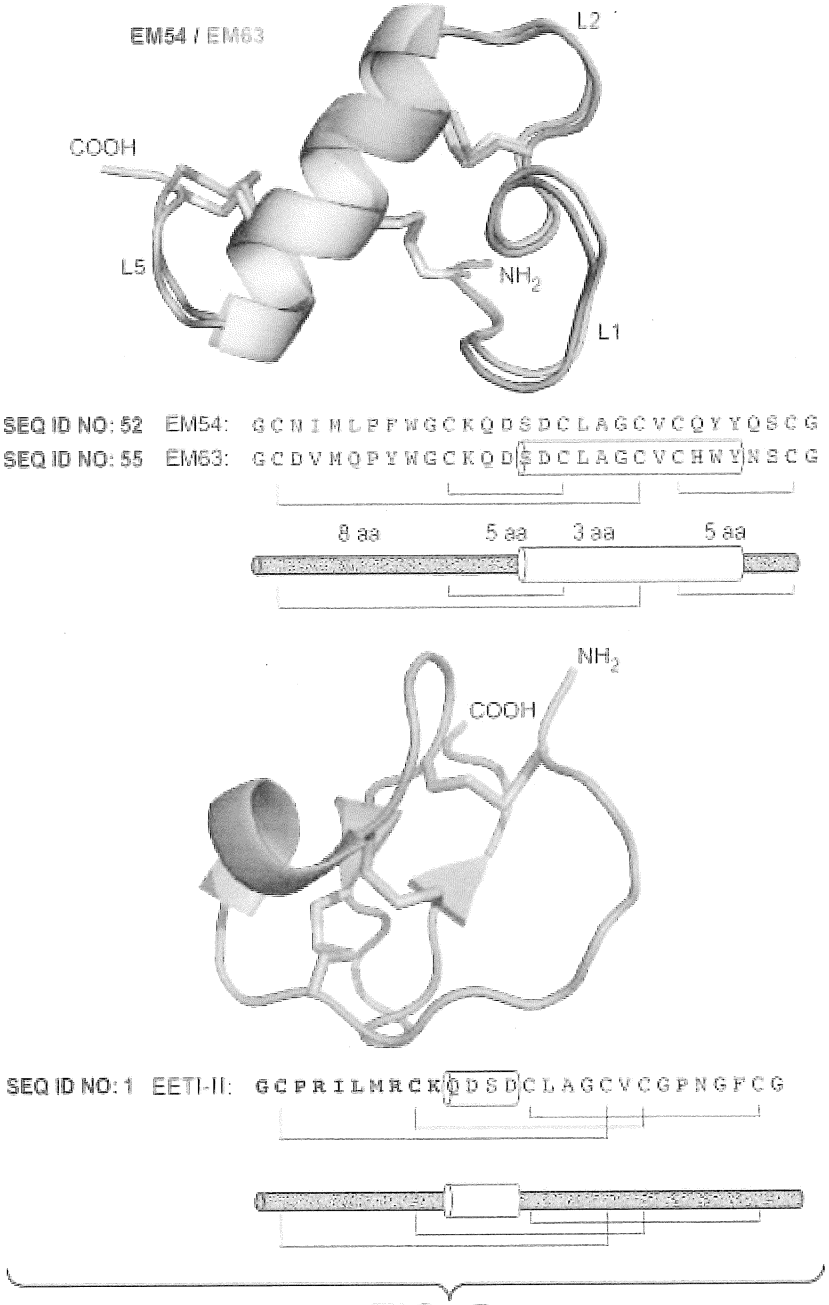

EM54 / EM63
L2
COOH
L5
NH2
L1
SEQ ID NO: 52 EM54: G C N I M L P F W G C K Q D S D C L A G C V C Q Y Y Q S C G
SEQ ID NO: 55 EM63: G C D V M Q P Y W G C K Q D S D C L A G C V C H W V N S C G
8 aa
5 aa
3 aa
5 aa
NH2
COOH
SEQ ID NO: 1 EETI-II: G C P R I L M R C K Q D S D C L A G C V C G P N G F C G

FIG. 5

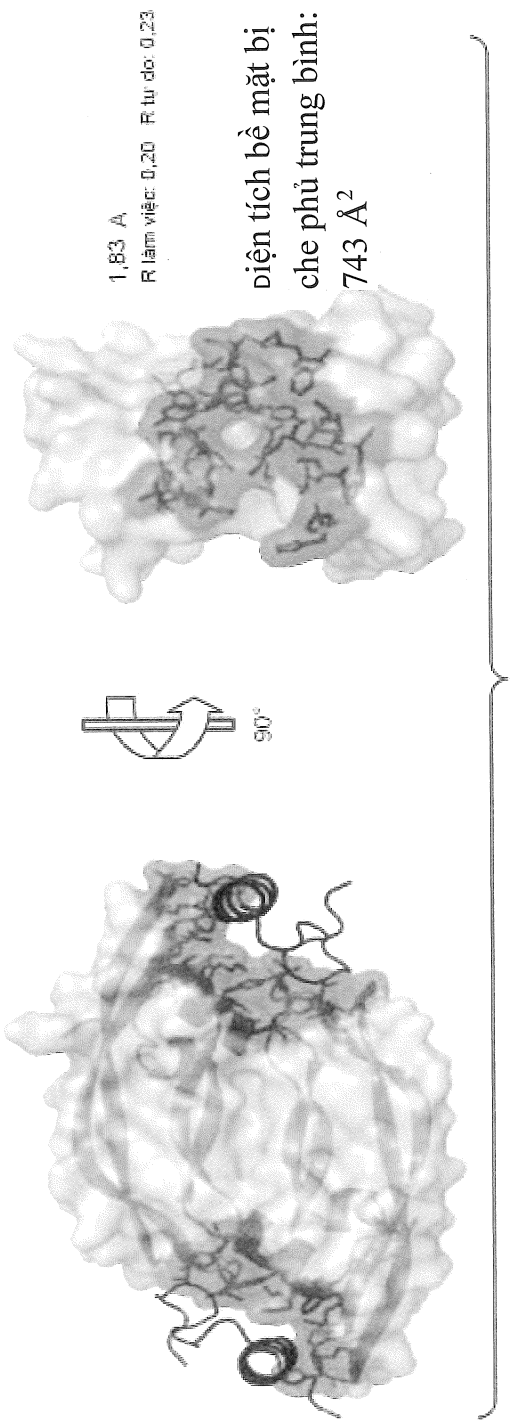

1,83 Å
R làm việc: 0,20 R tự do: 0,23
90°
diện tích bề mặt bị
che phủ trung bình:
743 Å2

FIG. 6

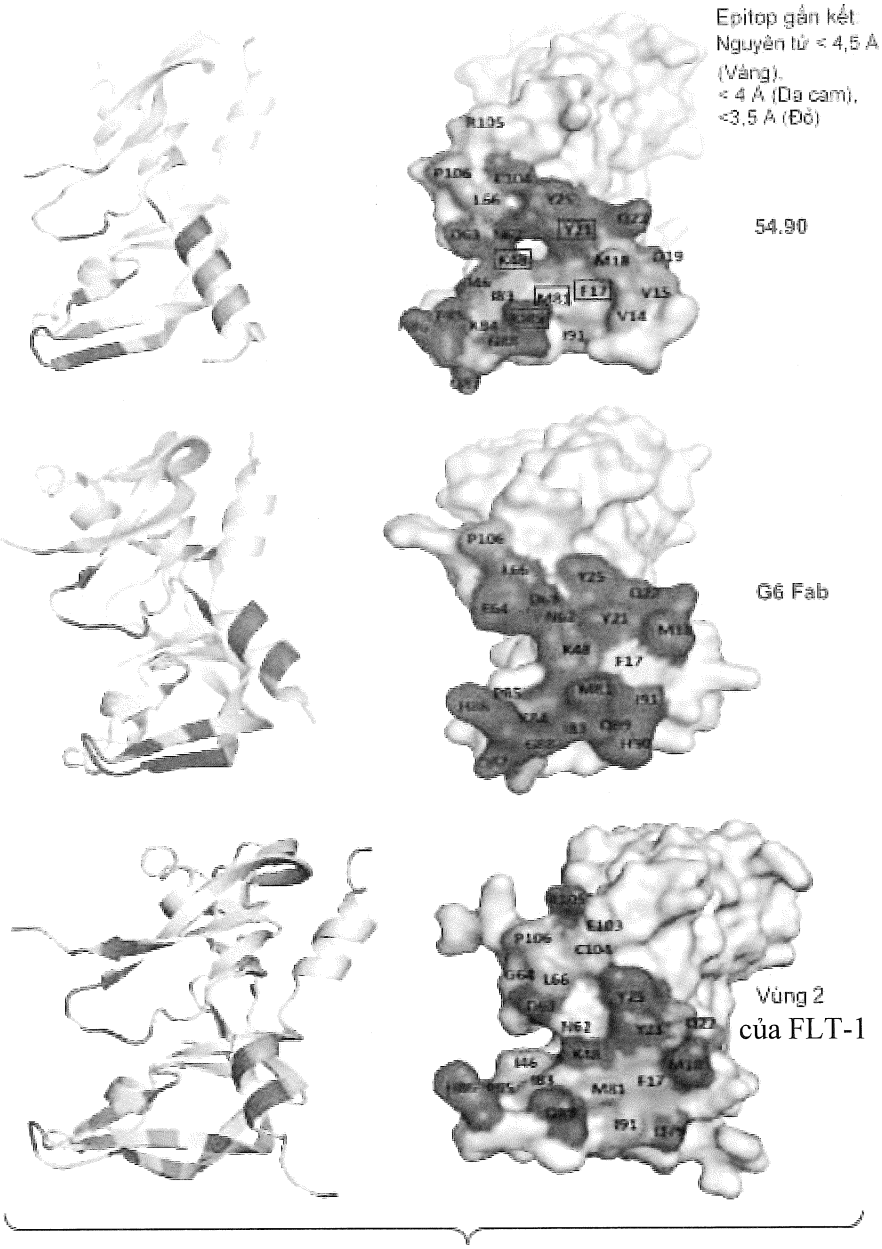

Epitop gắn kết
Nguyên tử < 4,5 Å
(Vàng),
< 4 Å (Da cam),
<3,5 Å (Đỏ)
54.90
G6 Fab
Vùng 2
của FLT-1

FIG. 7

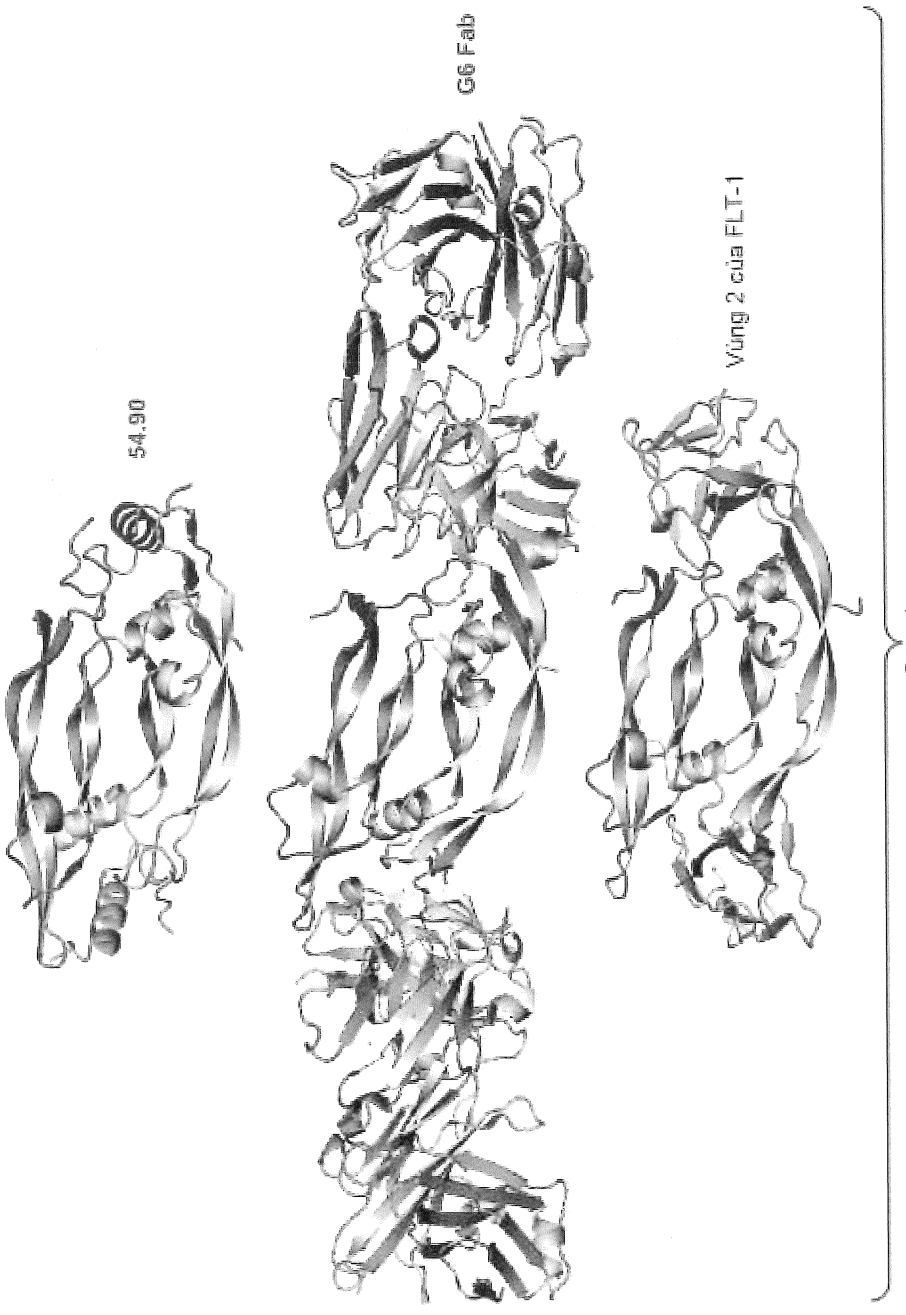


FIG. 8

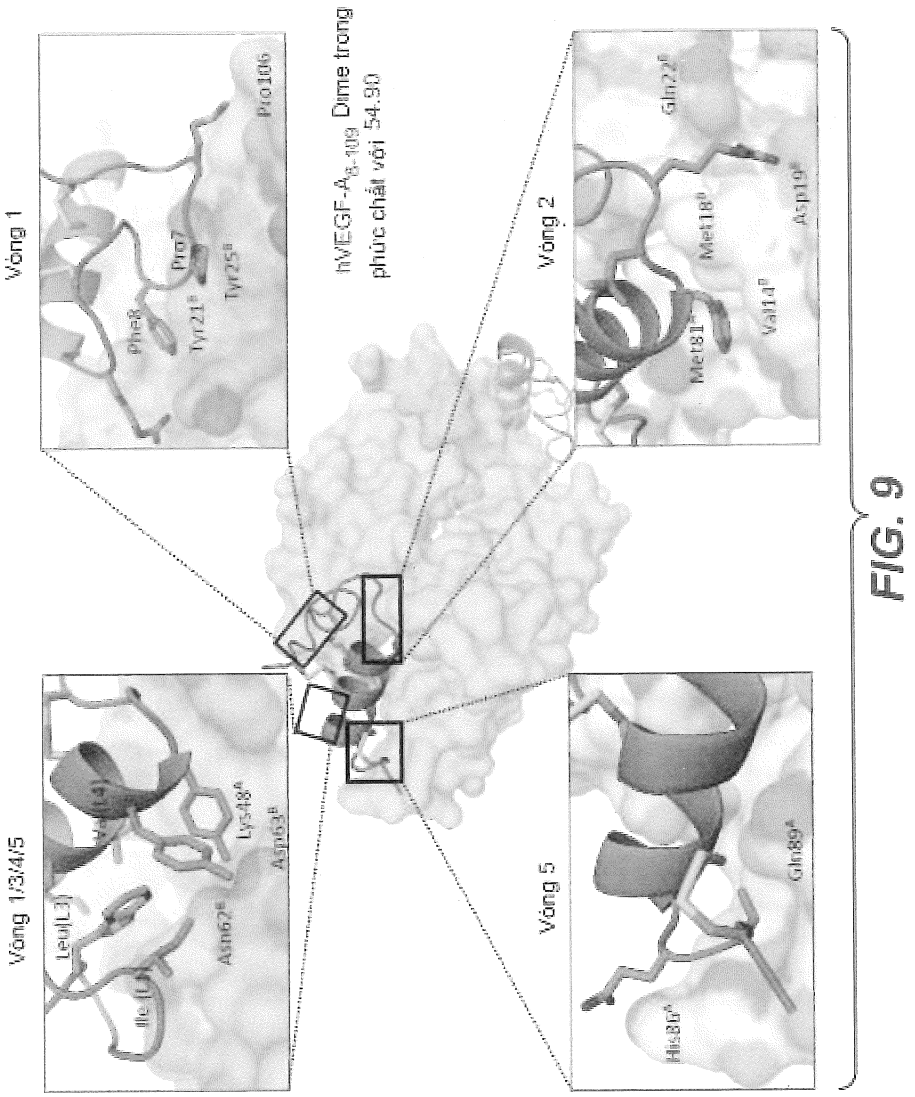

Vòng 1
Phe8
Pro7
Tyr21B
Tyr25A
Pro106
hVEGF-A8-109 Dime trong
phức chất với 54.90
Vòng 2
Gln22B
Met18B
Met81A
Val14B
Asp19B
Vòng 1/3/4/5
Leu(L3)
Ile(L3)
Asn62B
Lys48A
Asn62A
Vòng 5
Ile83A
Gln89A

FIG. 9

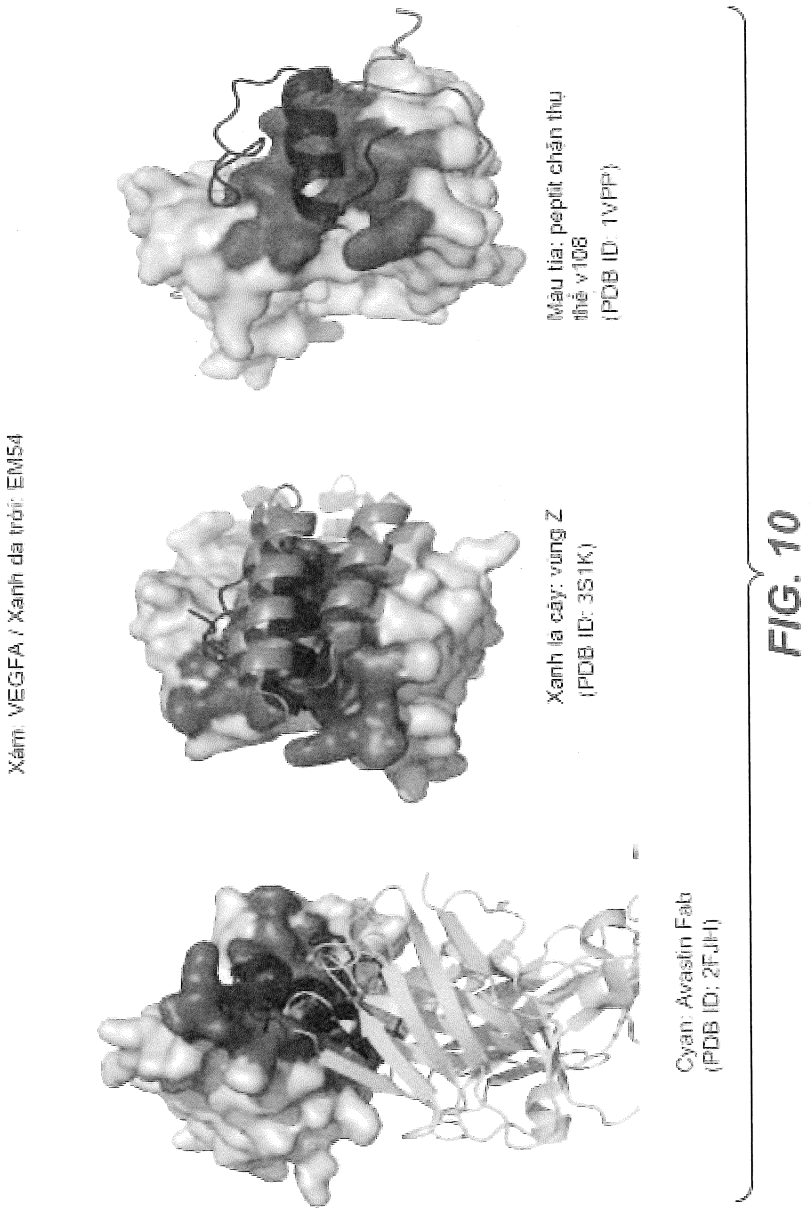

Xám: VEGFA / Xanh da trời: EM54
Cyan: Avastin Fab
(PDB ID: 2FJH)
Xanh lá cây: vùng Z
(PDB ID: 3S1K)
Màu tía: peptit chặn thụ
thể v108
(PDB ID: 1VPF)

FIG. 10

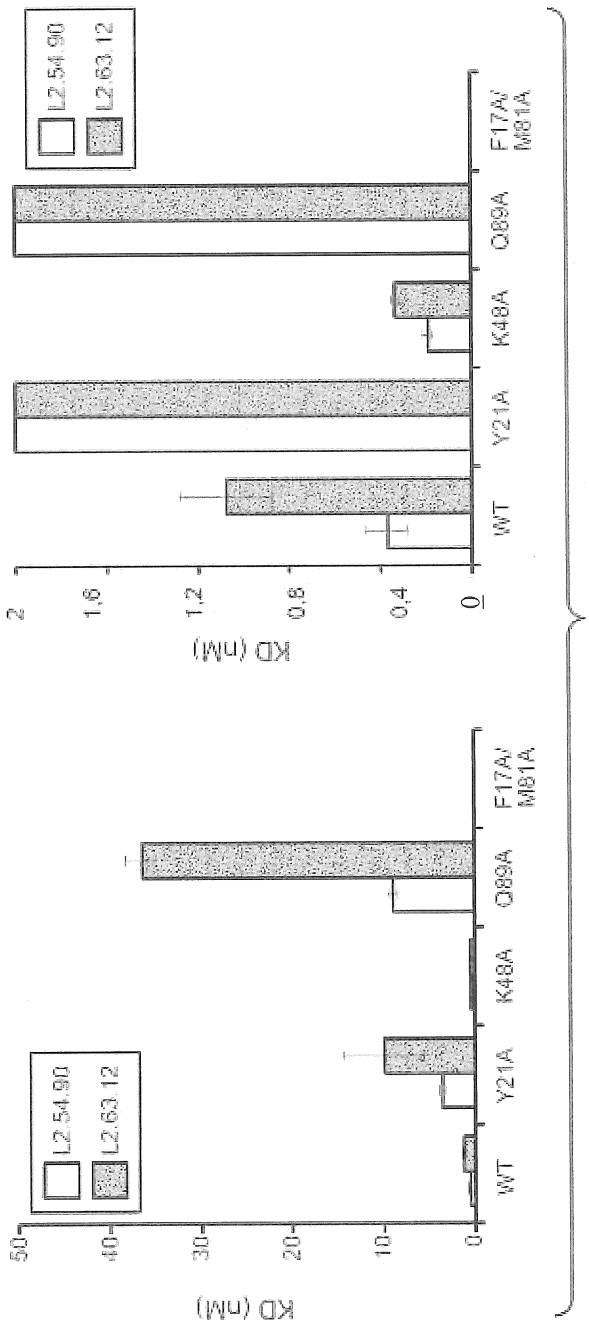

L2.54.90
L2.63.12
KD (nM)
0
10
20
30
40
50
WT
Y21A
K48A
Q89A
F17A/
M81A
L2.54.90
L2.63.12
KD (nM)
0
0,4
0,8
1,2
1,6
2
WT
Y21A
K48A
Q89A
F17A/
M81A

FIG. 11

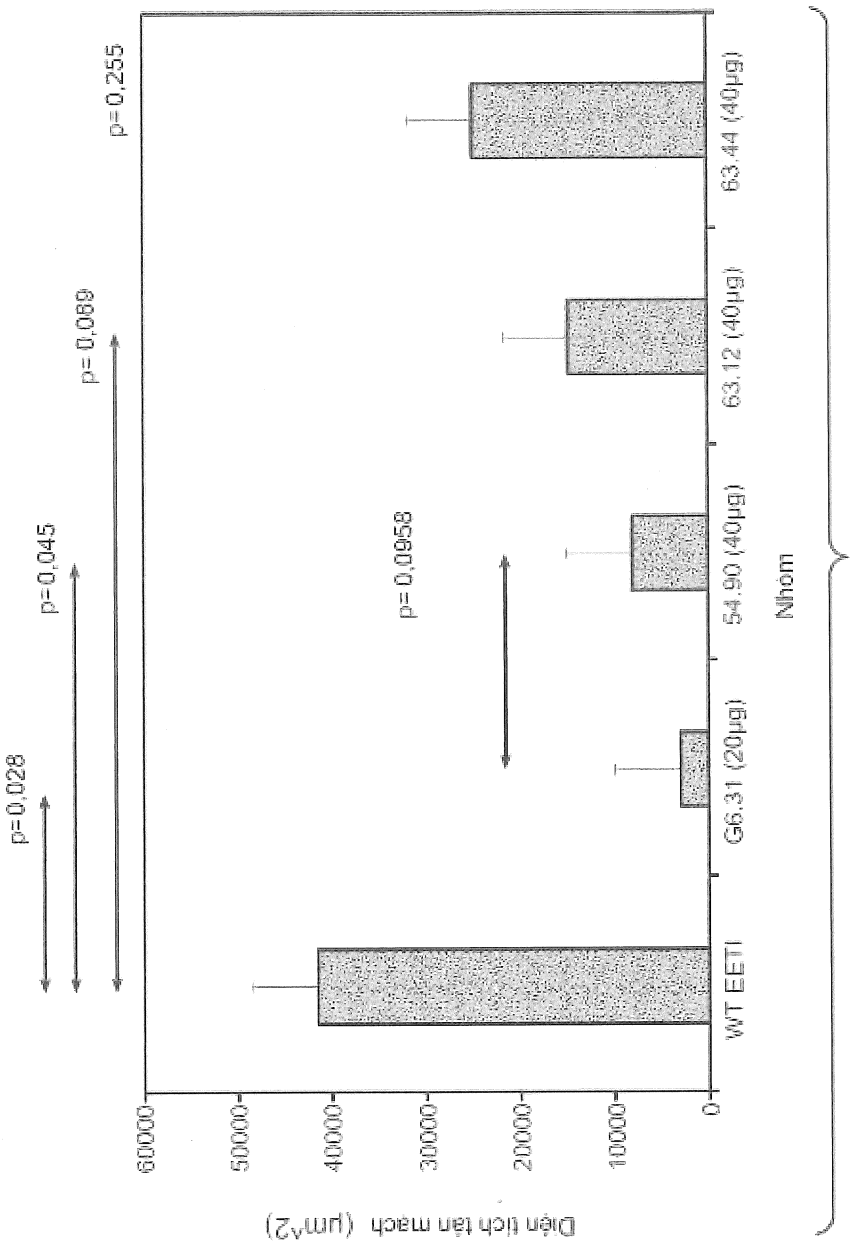

Diện tích tàn mạch (µm^2)
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
WT EETI
G6.31 (20µg)
54.90 (40µg)
63.12 (40µg)
63.44 (40µg)
Nhóm
p=0,0958
p=0,028
p=0,045
p=0,089
p=0,255

FIG. 12

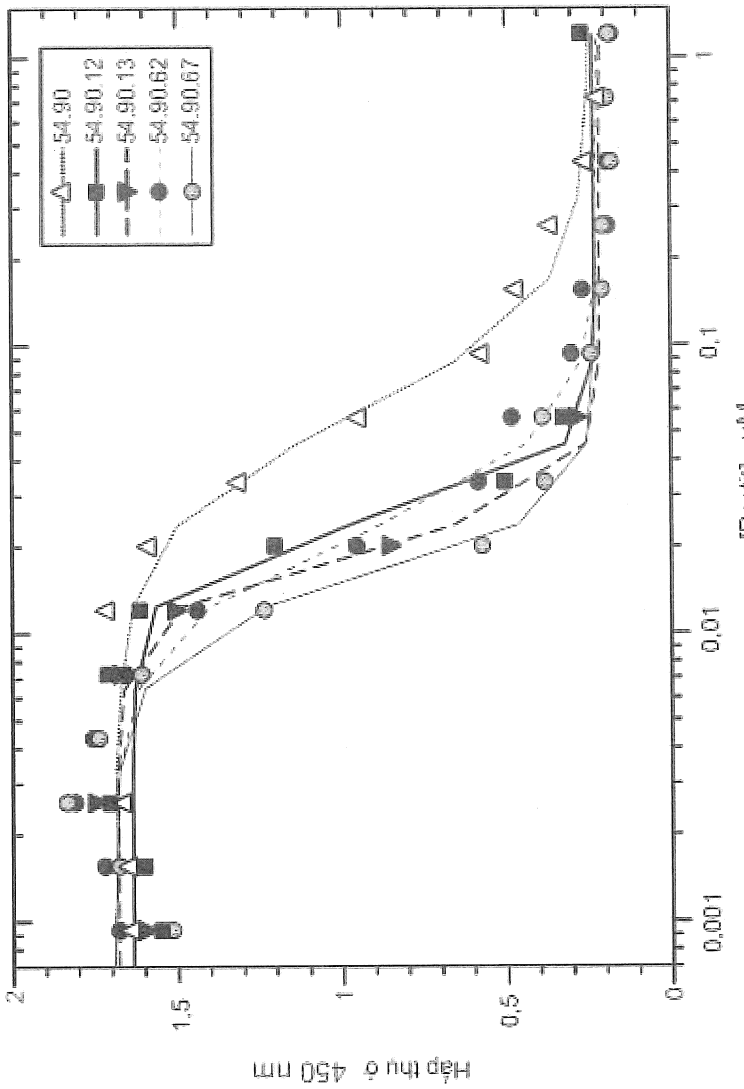

54.90
54.90.12
54.90.13
54.90.62
54.90.67
Hấp thụ ở 450 nm
[Peptit] , µM
0
0,5
1
1,5
2
0,001
0,01
0,1
1

FIG. 13

Tổng hợp	Dòng	Đầu tận cùng N	Vòng 1	Vòng 2	Vòng 3	4	Vòng 5	
	WT		C C P R I L M R	C K Q D S D	C L A G	C V	C G P N G F	C G SEQ ID NO: 1
E9	C9		C C Q L M Q P F W G	C	C	C	C H W Y Q S	C G SEQ ID NO: 23
EM54	C54		C C N I M L P F W G	C	C	C	C Q V Y Q S	C G SEQ ID NO: 52
EM63	C63		C C D V M Q P Y W G	C	C	C	C H W Y N S	C G SEQ ID NO: 55

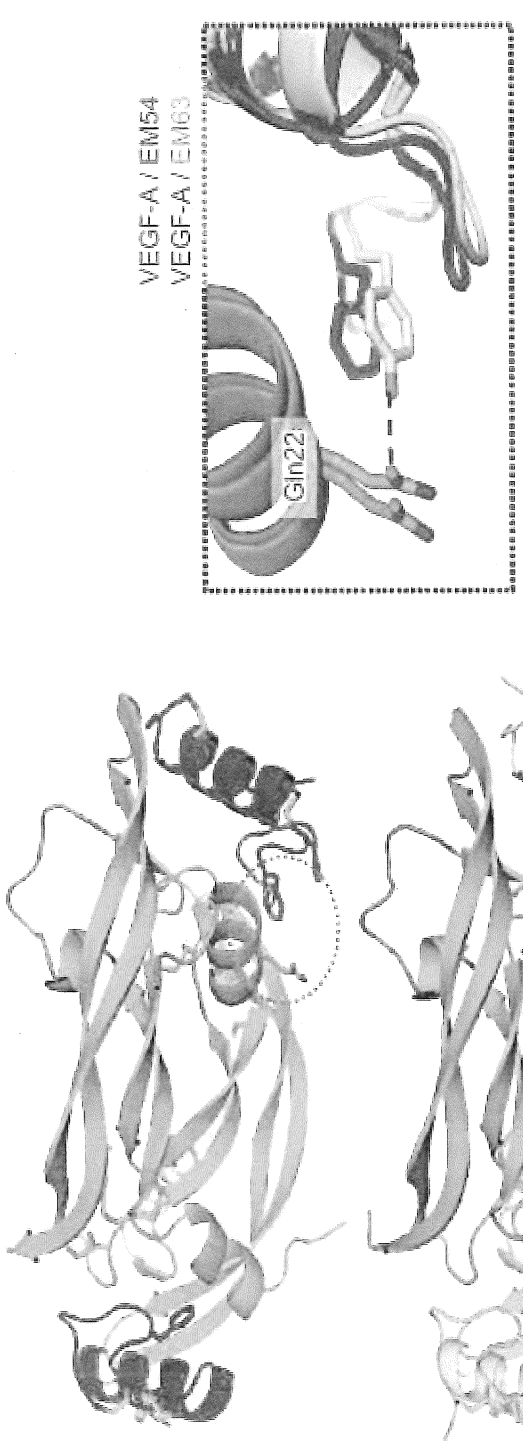


FIG. 14

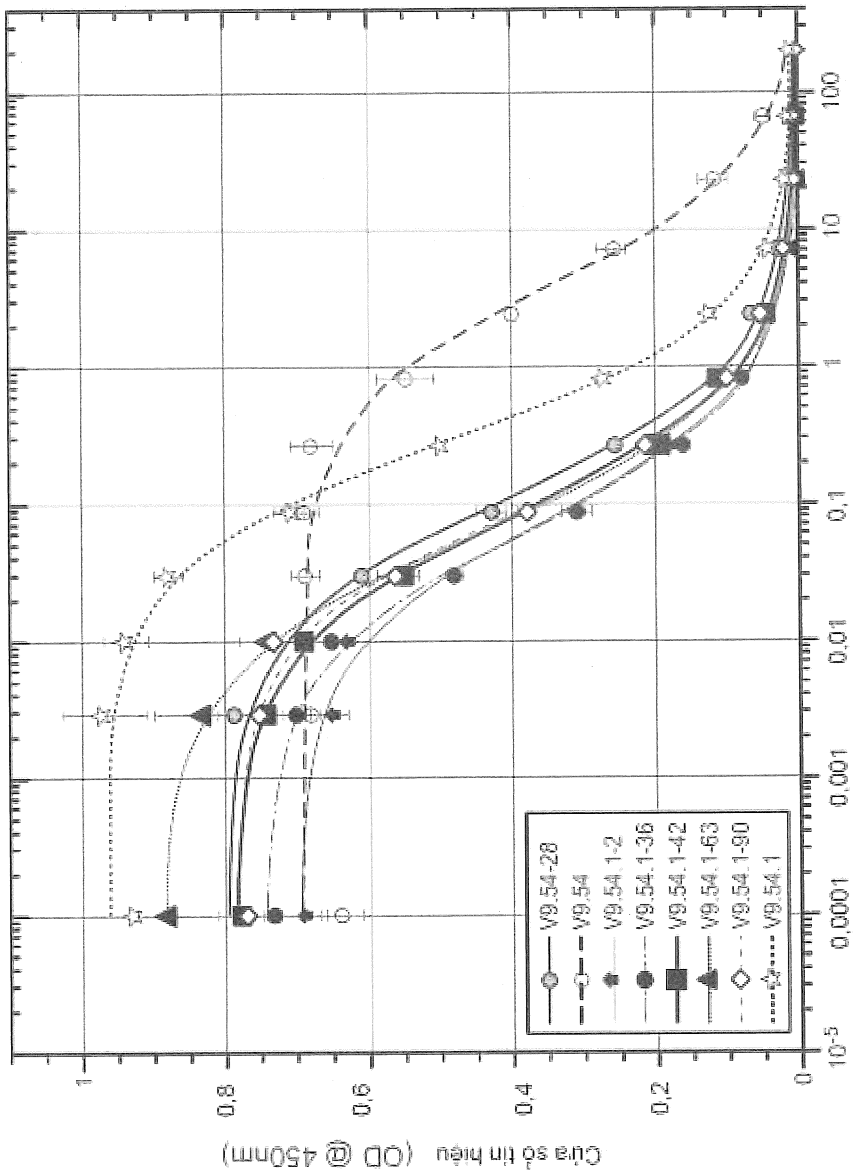

Cua sô tin hiệu (OD @ 450nm)
0
0,2
0,4
0,6
0,8
1
10-5
0,0001
0,001
0,01
0,1
1
10
100
[hVEGF (8-109)] nM
V9.54-28
V9.54
V9.54.1-2
V9.54.1-36
V9.54.1-42
V9.54.1-63
V9.54.1-90
V9.54.1

FIG. 15

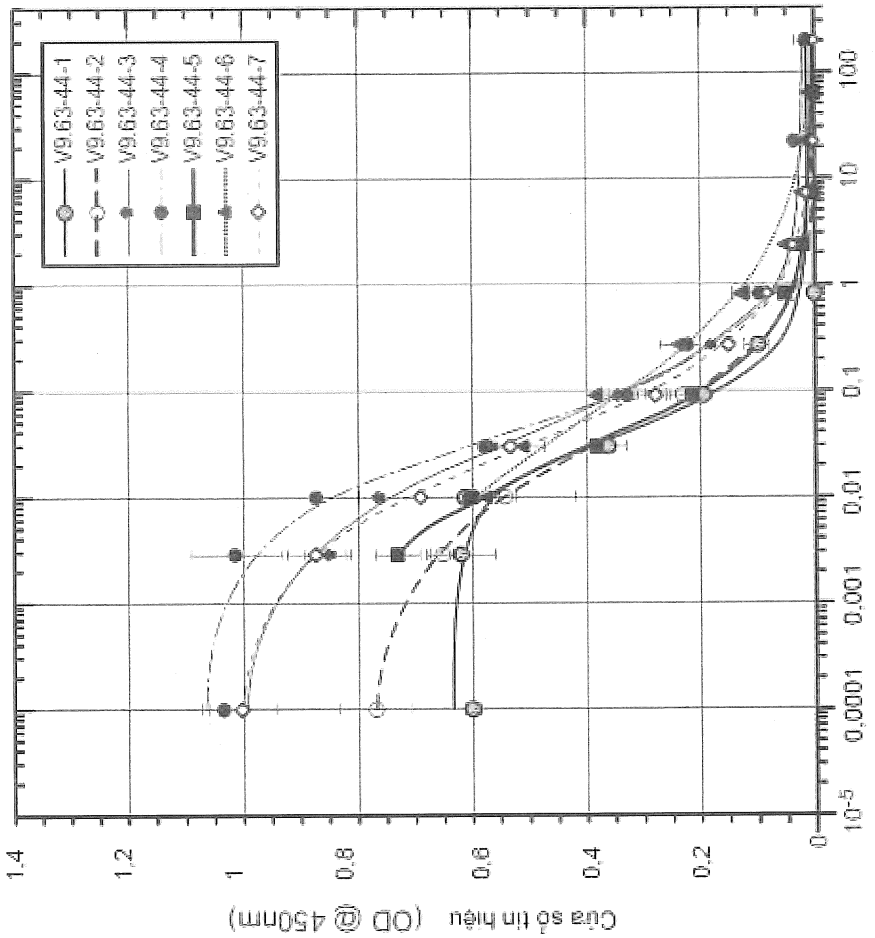

V9.63-44-1
V9.63-44-2
V9.63-44-3
V9.63-44-4
V9.63-44-5
V9.63-44-6
V9.63-44-7
Cửa sổ tín hiệu (OD @ 450nm)
[hVEGF (8-109)] nM
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
1.4
10-5
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100

FIG. 16A

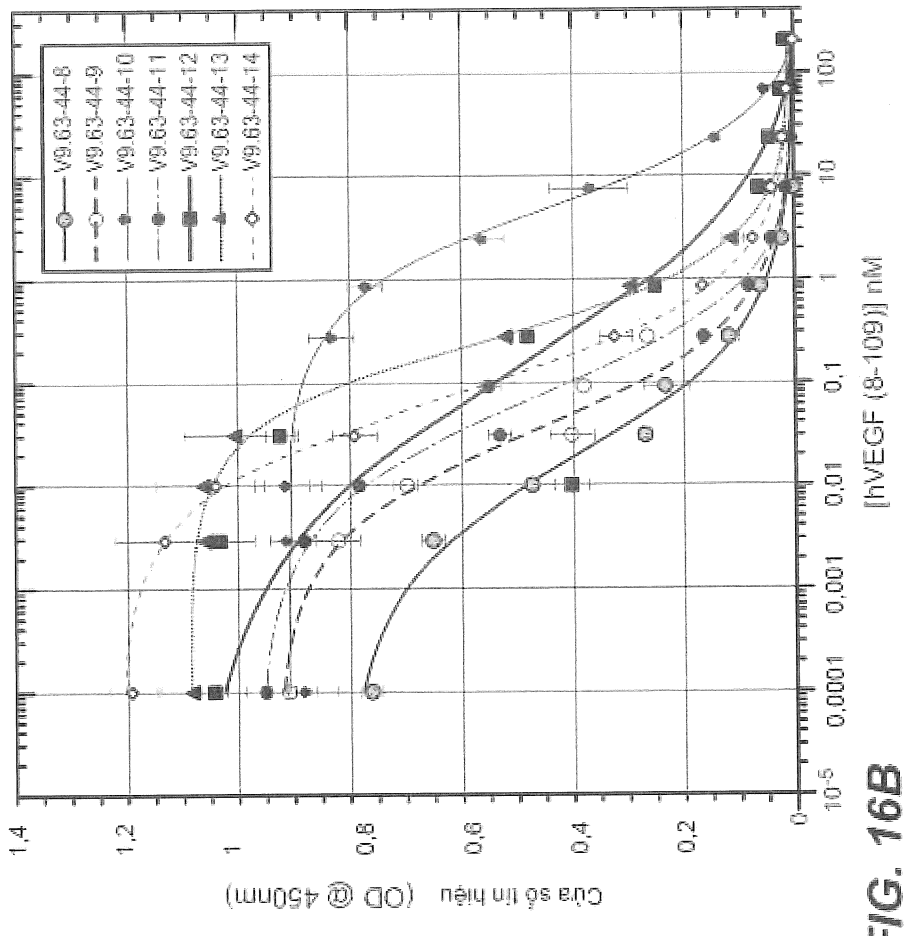

V9.63-44-8
V9.63-44-9
V9.63-44-10
V9.63-44-11
V9.63-44-12
V9.63-44-13
V9.63-44-14
Cửa sổ lin hiệu (OD @ 450nm)
[hVEGF (8-109)] nM
0
0,2
0,4
0,6
0,8
1
1,2
1,4
10⁻⁵
0,0001
0,001
0,01
0,1
1
10
100

FIG. 16B

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Genentech, Inc.

<120> PEPTIT GẮN KẾT VỚI YẾU TỐ TĂNG TRƯỞNG NỘI MẠC MẠCH MÁU A, PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA PEPTIT NÀY

<130> 146392026840

<150> US 62/219,063
<151> 15-09-2015

<160> 568

<170> FastSEQ cho phiên bản Windows 4.0

<210> 1
<211> 28
<212> PRT
<213> Ecballium elaterium

<400> 1
Gly Cys Pro Arg Ile Leu Met Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25

<210> 2
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1, 2, 3, 4, 5, 6
<223> Xaa = axit amin bất kỳ

<400> 2
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 3
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
<223> Xaa = axit amin bất kỳ

<400> 3
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8
<223> Xaa = axit amin bất kỳ

<400> 4
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9
<223> Xaa = axit amin bất kỳ

<400> 5
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10
<223> Xaa = axit amin bất kỳ

<400> 6
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1, 2, 3, 4, 5
<223> Xaa = axit amin bất kỳ hoặc axit amin không tự nhiên

<400> 7
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 8
Pro Thr Thr Arg Phe Lys Gln Tyr
 1   5

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 9
Gln Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Leu Tyr
 1   5   10

<210> 10
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 10
Gln Leu Met Gln Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 11
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 11
Arg Asp Leu Asp Val Lys Trp Asp
 1   5

<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 12
Arg Thr Pro Trp Glu Pro His Asp Ile Thr
 1   5   10

<210> 13
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 13
Thr Thr Pro Trp Pro Pro His Glu Ile Met
 1   5   10

<210> 14

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 14
Val Thr Pro Trp Lys Pro His Trp Ile Asn
 1   5   10

<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 15
Gly Pro Asn Gly Phe
 1   5

<210> 16
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 16
Gln Met Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 17
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 17
His Trp Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 18
<211> 5
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 18
Gln Tyr Tyr Ser Ser
 1   5

<210> 19
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 19
Gly Pro Asn Gly Phe
 1   5

<210> 20
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = G hoặc E hoặc Y hoặc Q hoặc H

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = P hoặc M hoặc W hoặc Y

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = N hoặc Y hoặc W

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = G hoặc D hoặc T hoặc Q hoặc R hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5

<223> Xaa = F hoặc A hoặc E hoặc S

<400> 20
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 21
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 21
Gly Cys Pro Thr Thr Arg Phe Lys Gln Tyr Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
20 25 30

<210> 22
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 22
Gly Cys Gln Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 23
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 23
Gly Cys Gln Leu Met Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 24
<211> 30

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 24
Gly Cys Arg Asp Leu Asp Val Lys Trp Asp Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Phe Cys Gln Tyr Tyr Ser Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 25
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 25
Gly Cys Arg Thr Pro Trp Glu Pro His Asp Ile Thr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 26
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 26
Gly Cys Thr Thr Pro Trp Pro Pro His Glu Ile Met Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 27
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 27
Gly Cys Val Thr Pro Trp Lys Pro His Trp Ile Asn Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15

Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
20 25 30

<210> 28
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 28
Asp Val Leu Gln Pro Phe Trp Gly
1 5

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 29
Gln Ile Ser Gln Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 30
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 30
Asp Arg Met Gln Pro Leu Trp Gly
1 5

<210> 31
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 31
Asn Leu Met Leu Pro Phe Trp Gly
1 5

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 32
Gln Arg Thr Gln Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 33
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 33
Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 34
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 34
Asp Pro Met Gln Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 35
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 35
Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly
 1   5

<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 36
Asp Ile Met Gln Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 37
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 37
Gln Leu Leu Gln Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 38
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 38
Asn Pro Met Leu Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 39
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 39
Lys Leu Phe Glu Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 40
<211> 8

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = Q hoặc D hoặc K hoặc N hoặc A hoặc R hoặc H

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = L hoặc V hoặc I hoặc R hoặc P hoặc V

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = M hoặc L hoặc S hoặc T hoặc F

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = Q hoặc E hoặc L hoặc H

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa = F hoặc L hoặc M hoặc Y hoặc S

<400> 40
Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Trp Gly
 1   5

<210> 41
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 41
His Phe Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 42
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 42
Leu Trp Tyr Lys Ser
 1   5

<210> 43
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 43
Arg Trp Tyr His Ser
 1   5

<210> 44
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 44
Arg Trp Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 45
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 45
Gln Tyr Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 46
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 46
His Trp Tyr Asn Ser
 1   5

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 47
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 48
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 48
Gly Cys Gln Ile Ser Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Phe Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 49
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 49
Gly Cys Asp Arg Met Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Leu Trp Tyr Lys Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 50
<211> 30
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 50
Gly Cys Asn Leu Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr His Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 51
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 51
Gly Cys Gln Arg Thr Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 52
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 52
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 53
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 53
Gly Cys Asn Pro Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly

20 25 30

<210> 54
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 54
Gly Cys Asp Pro Met Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 55
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 55
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 56
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 56
Gly Cys Asp Ile Met Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 57
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 57
Gly Cys Gln Leu Leu Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 58
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 58
Gly Cys Asn Pro Met Leu Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 59
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 59
Gly Cys Lys Leu Phe Glu Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Glu Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 60
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 60
Lys Asn Pro Leu Phe Asn Trp Ala Leu Tyr
 1   5   10

<210> 61
<211> 10

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 61
Gln Asp Pro Thr Val Asn Trp Ala Val Tyr
 1   5   10

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 62
Gln Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Glu Tyr
 1   5   10

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 63
Gln Asp Pro Ser Leu Asn Trp Ala Asp Tyr
 1   5   10

<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 64
Leu Asp Arg Thr Leu Asn Trp Ala Leu Tyr
 1   5   10

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 65
Leu Asp Pro Ser Phe Asn Trp Ser Leu Tyr
 1   5   10

<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 66
Arg Asp Leu Thr Ile Asn Trp Ala Leu Phe
 1   5   10

<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 67
Leu Asp Pro Thr Val Asn Trp Ala Leu Phe
 1   5   10

<210> 68
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 68
Gln Asp Pro Lys Leu Asn Trp Ala Val Tyr
 1   5   10

<210> 69
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 69
Leu Asp Pro Ser Phe Asp Trp Ala Leu Tyr
 1   5   10

<210> 70
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = Q hoặc D hoặc K hoặc W hoặc E hoặc L hoặc R

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = D hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = P hoặc R hoặc L hoặc T

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = T hoặc S hoặc L hoặc K

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = F hoặc V hoặc L hoặc I

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa = N hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 8
<223> Xaa = A hoặc S hoặc G

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 9
<223> Xaa = L hoặc V hoặc E hoặc T hoặc Q hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 10
<223> Xaa = F hoặc Y

<400> 70
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 71
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 71
Gln Leu Phe Asp Ser
 1   5

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 72
Gln Phe Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 73
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 73
Gln Leu Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 74
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 74
Gln Met His Gln Ser
 1   5

<210> 75
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 75
Gln Met Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 76
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 76
Gln Met Tyr Asp Ser
 1   5

<210> 77
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 77
Gln His Tyr Lys Thr
 1   5

<210> 78
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 78
Gln Leu Phe Asn Ser
 1   5

<210> 79
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 79
Gln Leu Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 80
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = Q hoặc R

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = M hoặc L hoặc F hoặc H

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = Y hoặc F hoặc H

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = D hoặc Q hoặc N hoặc K

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = S hoặc T

<400> 80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 81
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 81
Gly Cys Lys Asn Pro Leu Phe Asn Trp Ala Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Leu Phe Asp Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 82
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 82
Gly Cys Gln Asp Pro Thr Val Asn Trp Ala Val Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Phe Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 83
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 83
Gly Cys Gln Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Glu Tyr Cys Lys Gln Asp
1 5 10 15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Leu Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 84
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 84
Gly Cys Gln Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Glu Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 85
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 85
Gly Cys Gln Asp Pro Ser Leu Asn Trp Ala Asp Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met His Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 86
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 86
Gly Cys Leu Asp Arg Thr Leu Asn Trp Ala Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 87
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 87
Gly Cys Leu Asp Pro Ser Phe Asn Trp Ser Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Asp Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 88
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 88
Gly Cys Arg Asp Leu Thr Ile Asn Trp Ala Leu Phe Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Phe Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 89
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 89
Gly Cys Leu Asp Pro Thr Val Asn Trp Ala Leu Phe Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln His Tyr Lys Thr Cys Gly
            20   25   30

<210> 90
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 90
Gly Cys Gln Asp Pro Lys Leu Asn Trp Ala Val Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Leu Phe Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 91
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 91
Gly Cys Leu Asp Pro Ser Phe Asp Trp Ala Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Leu Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 92
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 92
Pro Arg Ile Leu Met Arg
 1   5

<210> 93
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 93
Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5

<210> 94
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 94
Gly Gln Ser Phe Glu
 1   5

<210> 95
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 95
Gly Leu Asp Tyr Asp
 1   5

<210> 96
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 96
Gly Pro Asp Leu Gln
 1   5

<210> 97
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 97
Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5

<210> 98
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = K hoặc G hoặc Q hoặc S hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = Q hoặc L hoặc P hoặc A hoặc V hoặc T hoặc R hoặc W hoặc K hoặc G hoặc Y

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = D hoặc S hoặc E hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = S hoặc F hoặc Y hoặc L hoặc F hoặc Q hoặc M

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = D hoặc E hoặc N hoặc A hoặc L hoặc F hoặc H hoặc Q

<400> 98
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 99
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 99
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 100
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 100
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Leu Asp Tyr Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 101
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 101
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Pro Asp Leu Gln
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 102
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 102
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 103
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 103
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Gln Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 104
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 104
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Glu Arg Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 105
<211> 30
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 105
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 106
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 106
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Asn Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 107
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 107
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Gln Thr Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 108
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 108
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Tyr Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly

20 25 30

<210> 109
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 109
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Phe Ile Asn Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 110
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 110
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Val Ser Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 111
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 111
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Val Thr Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 112
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 112
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Phe Tyr Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 113
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 113
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 114
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 114
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Tyr Arg Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 115
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = K hoặc P hoặc Q hoặc R

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 2
<223> Xaa = K hoặc T hoặc L hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = W hoặc T hoặc M hoặc L

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = Q hoặc R hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = W hoặc F hoặc P hoặc V

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa = W hoặc K hoặc F

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 7
<223> Xaa = Y hoặc Q hoặc W

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 8
<223> Xaa = M hoặc Y hoặc G hoặc D

<400> 115
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 116

<400> 116
000

<210> 117
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 117
Gly Glu Asn Phe Leu

1 5

<210> 118
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 118
Gly Pro Asp Ile Asp
1 5

<210> 119
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 119
Gly Arg Asp Met Asp
1 5

<210> 120
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 120
Glu Met Asp Phe Asp
1 5

<210> 121
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = K hoặc G hoặc D hoặc A hoặc E

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = Q hoặc E hoặc R hoặc V hoặc P hoặc D hoặc M hoặc G hoặc N hoặc
L hoặc A hoặc F

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = D hoặc N hoặc Y hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = S hoặc F hoặc L hoặc I hoặc M hoặc Y hoặc V hoặc N hoặc E

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = D hoặc L hoặc Q hoặc S hoặc E hoặc T hoặc L hoặc A hoặc N

<400> 121
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 122
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 122
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Glu Asn Phe Leu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 123
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 123
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15

Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 124
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 124
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Met Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 125
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 125
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 126
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 126
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Glu Ser Leu Ser
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 127
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 127
Asp Val Met Lys Pro Met Trp Gly
 1   5

<210> 128
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 128
Asp Val Leu Asp Pro Thr Trp Gly
 1   5

<210> 129
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 129
Asp Val Leu Gln Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 130
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = M hoặc L

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = Q hoặc K hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 6
<223> Xaa = Y hoặc M hoặc T hoặc L

<400> 130
Asp Val Xaa Xaa Pro Xaa Trp Gly
 1   5

<210> 131
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 131
Gln Trp Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 132
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 132
Leu Trp Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 133
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 133
Arg Trp Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 134
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = H hoặc L hoặc Q hoặc R

<400> 134
Xaa Trp Tyr Asn Ser
 1   5

<210> 135
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 135
Gly Cys Asp Val Met Lys Pro Met Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 136
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 136
Gly Cys Asp Val Leu Asp Pro Thr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Leu Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 137
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 137
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 138

<400> 138
000

<210> 139
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 139
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Phe Val Arg Cys Leu Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 140
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 140
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 141
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 141
Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly
 1   5

<210> 142
<211> 30
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 142
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 143
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = norleuxin

<400> 143
Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly
 1   5

<210> 144
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 144
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 145
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 145
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Ser Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 146
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 146
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 147
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 147
Arg Thr Asn Arg Val Lys Gly Gly
 1   5

<210> 148
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 148
Val Asn Arg Val Arg Gly
 1   5

<210> 149
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 149
Met Asn His Val Lys Ala Arg Arg
 1   5

<210> 150
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 150
Arg Ser Val Asn Lys Ile
 1   5

<210> 151
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 151
Val Asn Lys Ile Lys Gly
 1   5

<210> 152
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 152
Arg Asn Ser Ile Lys Arg
 1   5

<210> 153
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 153
Val Ser Asn Arg Val Asn Lys Gly
 1   5

<210> 154
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 154
Arg Gly Asn Ile Ile Lys
 1   5

<210> 155
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 155
Arg Ser Gly Asn Thr Ile Arg Lys Arg Glu
 1   5   10

<210> 156
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 156

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

<210> 157
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 157
Arg Ser Asn Arg Ile Arg
1 5

<210> 158
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 158
Arg Ser Asn Lys Leu Arg Glu Ala Arg Gly
1 5 10

<210> 159
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 159
Val Asn Ser Val Lys Arg
1 5

<210> 160
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 160
Gly Ser Asn Lys Ile Arg Pro Arg
1 5

<210> 161
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 161
Asn Arg Ile Arg Asn Ser
 1   5

<210> 162
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 162
Ser Arg Asn Ser Ile Lys
 1   5

<210> 163
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 163
Ser Asn Tyr Val Lys Arg
 1   5

<210> 164
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 164
Arg Ala Asn Arg Val Ser Gly Arg
 1   5

<210> 165
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 165
Ser Asn Arg Val Lys Val Arg Ala
 1   5

<210> 166
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 166
Glu Asn Arg Thr Lys Gly
 1   5

<210> 167
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 167
Gly Asn Lys Ile Arg Ala
 1   5

<210> 168
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 168
Ala Asn Arg Val Lys Arg Thr Ser
 1   5

<210> 169
<211> 5

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 169
Ser Gly Gly Arg Asp
 1   5

<210> 170
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 170
Gly Ser Ser Arg Asn
 1   5

<210> 171
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 171
Gly Val Glu Gly Arg
 1   5

<210> 172
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 172
Ser Val Gly His Gly
 1   5

<210> 173
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 173
Asn Glu Ser Arg Gly
 1   5

<210> 174
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 174
Gly Gly Pro Gly Gly
 1   5

<210> 175
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 175
Gly Pro Lys Ser Asn
 1   5

<210> 176
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 176
Tyr Gly His Gly Asp
 1   5

<210> 177
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 177
Gly Ser Arg Gln Asp
 1   5

<210> 178
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 178
Ser Arg Gly Val Asn
 1   5

<210> 179
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 179
Gly Pro Asn Asp Phe
 1   5

<210> 180
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 180
Gly Arg Gly Asp Tyr
 1   5

<210> 181
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 181
Ala Ser Gly Ser Ser
 1   5

<210> 182
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 182
Ser Pro Gly Gly Arg
 1   5

<210> 183
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 183
Gly Phe Arg Gly Thr
 1   5

<210> 184
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 184
Arg Asp Arg Val Gly
 1   5

<210> 185
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 1
<223> Xaa = V hoặc R hoặc N hoặc S hoặc E hoặc G

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = N hoặc S hoặc G hoặc R

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = R hoặc V hoặc K hoặc S hoặc N hoặc I hoặc Y

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = V hoặc N hoặc I hoặc R hoặc S hoặc T

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = R hoặc K hoặc I hoặc N

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa = G hoặc I hoặc R hoặc K hoặc S hoặc A

<400> 185
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 186
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = A hoặc R hoặc M hoặc V hoặc G hoặc S

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = N hoặc T hoặc S hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3

<223> Xaa = R hoặc N hoặc H

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = V hoặc R hoặc K

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = K hoặc V hoặc I

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa = R hoặc K hoặc A hoặc N hoặc S hoặc V

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 7
<223> Xaa = T hoặc G hoặc R hoặc K hoặc P

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 8
<223> Xaa = S hoặc G hoặc R hoặc A

<400> 186
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 187
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = R hoặc A hoặc Q

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = S hoặc A

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = G hoặc S hoặc N hoặc I

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = N hoặc K

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = T hoặc S hoặc L hoặc R

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa = I hoặc R hoặc V

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 7
<223> Xaa = R hoặc E hoặc K

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 8
<223> Xaa = K hoặc Q hoặc A hoặc R

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 9
<223> Xaa = R hoặc G hoặc Q

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 10
<223> Xaa = E hoặc W hoặc G hoặc R

<400> 187
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 188
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = G hoặc S hoặc N hoặc Y hoặc A hoặc R

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = P hoặc G hoặc S hoặc V hoặc E hoặc R hoặc F hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = N hoặc G hoặc S hoặc E hoặc P hoặc K hoặc H hoặc R

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = G hoặc R hoặc H hoặc S hoặc Q hoặc V hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = F hoặc D hoặc N hoặc R hoặc G hoặc Y hoặc S hoặc T

<400> 188
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5

<210> 189
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 189
Gly Cys Arg Thr Asn Arg Val Lys Gly Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 190
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 190
Gly Cys Val Asn Arg Val Arg Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Ser Gly Gly Arg Asp Cys Gly
            20   25

<210> 191
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 191
Gly Cys Met Asn His Val Lys Ala Arg Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 192
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 192
Gly Cys Arg Ser Val Asn Lys Ile Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Ser Ser Arg Asn Cys Gly
            20   25

<210> 193
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 193
Gly Cys Val Asn Lys Ile Lys Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Val Glu Gly Arg Cys Gly
            20   25

<210> 194
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 194
Gly Cys Arg Asn Ser Ile Lys Arg Cys Lys Gln Asn Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Ser Val Gly His Gly Cys Gly
            20   25

<210> 195
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 195
Gly Cys Val Ser Asn Arg Val Asn Lys Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 196
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 196
Gly Cys Arg Gly Asn Ile Ile Lys Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Asn Glu Ser Arg Gly Cys Gly
            20   25

<210> 197
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 197
Gly Cys Arg Ser Gly Asn Thr Ile Arg Lys Arg Glu Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Gly Pro Gly Gly Cys Gly
            20   25   30

<210> 198
<211> 32

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 198
Gly Cys Ala Ser Ser Asn Ser Ile Arg Gln Gly Trp Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Lys Ser Asn Cys Gly
            20   25   30

<210> 199
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 199
Gly Cys Arg Ser Asn Arg Ile Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Tyr Gly His Gly Asp Cys Gly
            20   25

<210> 200
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 200
Gly Cys Arg Ser Asn Lys Leu Arg Glu Ala Arg Gly Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Ser Arg Gln Asp Cys Gly
            20   25   30

<210> 201
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 201
Gly Cys Val Asn Ser Val Lys Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15

Ala Gly Cys Val Cys Ser Arg Gly Val Asn Cys Gly
20 25

<210> 202
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 202
Gly Cys Gly Ser Asn Lys Ile Arg Pro Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Asp Phe Cys Gly
20 25 30

<210> 203
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 203
Gly Cys Asn Arg Ile Arg Asn Ser Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
1 5 10 15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Arg Gly Asp Tyr Cys Gly
20 25

<210> 204
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 204
Gly Cys Ser Arg Asn Ser Ile Lys Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
1 5 10 15
Ala Gly Cys Val Cys Ala Ser Gly Ser Ser Cys Gly
20 25

<210> 205
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 205
Gly Cys Ser Asn Tyr Val Lys Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Ser Pro Gly Gly Arg Cys Gly
            20   25

<210> 206
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 206
Gly Cys Arg Ala Asn Arg Val Ser Gly Arg Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 207
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 207
Gly Cys Ser Asn Arg Val Lys Val Arg Ala Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 208
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 208
Gly Cys Glu Asn Arg Thr Lys Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Gly Phe Arg Gly Thr Cys Gly
            20   25

<210> 209
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 209
Gly Cys Gly Asn Lys Ile Arg Ala Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Arg Asp Arg Val Gly Cys Gly
            20   25

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 210
Gly Cys Ala Asn Arg Val Lys Arg Thr Ser Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 211
Gly Glu Ser Leu Ser
 1   5

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 6
<223> Xaa = 3,4-diflo-L-phenylalanin,
3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin,
3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin,
pyridon(NH meta)-L-alanin, hoặc sulfotyrosin

<400> 212
Asn Ile Met Leu Pro Xaa Trp Gly
 1   5

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 7
<223> Xaa = 1-Naphtyl alanin, 2-Naphtyl alanin, hoặc
2-cloindol

<400> 213
Asn Ile Met Leu Pro Phe Xaa Gly
 1   5

<210> 214
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = norleuxin

<400> 214
Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly
 1   5

<210> 215
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 215
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 216
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 30
<223> glyxin có thể bị chặn bởi C(=O)-oxetan-3yl

<400> 216
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 217
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 217
Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu Cys
 1   5   10   15
Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys
            20   25

<210> 218
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 218
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 219
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 9
<223> Xaa = 1-naphtylalanin, hoặc 2-naphtylalanin

<400> 219
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Xaa Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 220
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = 3-flotyrosin, hoặc 4-flophenylalanin

<400> 220
Gln Tyr Xaa Gln Ser
 1   5

<210> 221
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = PEG6-propargylglyxin

<400> 221
Xaa Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 222
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 222
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Asn Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 223
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 223
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Phe Tyr Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 224
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 224
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 225
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 225
Glu Thr Asp Trp Tyr Pro His Gln Ile Asp
 1   5   10

<210> 226
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 226
Gly Glu Thr Val Phe Glu Gln Phe Leu Trp
 1   5   10

<210> 227
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 227
His Met Met Tyr Asp Tyr
 1   5

<210> 228
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 228
Lys Lys Trp Gln Trp Trp Tyr Met
 1   5

<210> 229
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 229
Pro Ala Ile Gln Asn Trp Lys Glu His Pro
 1   5   10

<210> 230
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 230
Gln Leu Met His Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 231
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 231
His Met Met Tyr Asp Tyr
 1   5

<210> 232
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = E hoặc G hoặc P hoặc Q hoặc R hoặc T hoặc V

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = T hoặc E hoặc A hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = D hoặc T hoặc I hoặc P

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = W hoặc V hoặc Q hoặc T hoặc W

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = Y hoặc F hoặc N hoặc E hoặc P hoặc K

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa = P hoặc E hoặc W hoặc N hoặc P

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 7
<223> Xaa = H hoặc Q hoặc K hoặc W hoặc H

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 8
<223> Xaa = Q hoặc F hoặc E hoặc A hoặc D hoặc W

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 9
<223> Xaa = I hoặc L hoặc H

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 10
<223> Xaa = D hoặc W hoặc P hoặc Y hoặc T hoặc M hoặc N

<400> 232
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1   5   10

<210> 233
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 233
Gly Pro Asn Gly Phe
 1   5

<210> 234
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 234
Gly Pro Asn Gly Phe
 1   5

<210> 235
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 235
Glu Met Tyr Asp Ala
 1   5

<210> 236
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 236
Tyr Pro Trp Thr Glu
 1   5

<210> 237
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 237
Ser Trp Trp Pro Ser Leu
 1   5

<210> 238
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 238
His Trp Tyr Arg Ser
 1   5

<210> 239
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 239
Gly Cys Glu Thr Asp Trp Tyr Pro His Gln Ile Asp Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 240
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 240
Gly Cys Gly Glu Thr Val Phe Glu Gln Phe Leu Trp Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 241
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 241
Gly Cys His Met Met Tyr Asp Tyr Cys Lys Gln Asp Ser Asp Cys Leu
 1   5   10   15
Ala Gly Cys Val Cys Glu Met Tyr Asp Ala Cys Gly
            20   25

<210> 242
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 242
Gly Cys Lys Lys Trp Gln Trp Trp Tyr Met Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Tyr Pro Trp Thr Glu Cys Gly
            20   25   30

<210> 243
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 243
Gly Cys Pro Ala Ile Gln Asn Trp Lys Glu His Pro Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Ser Trp Trp Pro Ser Leu Cys
            20   25   30
Gly

<210> 244
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 244
Gly Cys Gln Leu Met His Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Arg Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 245
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 245
His Leu Phe Glu Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 246
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 246
Gln Val Met Arg Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 247
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 247
Gln Val Met Gln Pro Ala Trp Gly
 1   5

<210> 248
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 248
His Arg Leu Gln Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 249
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 249
Glu Leu Leu Gln Pro Ser Trp Gly
 1   5

<210> 250
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 250
Asn Val Leu Leu Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 251
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 251
Asp Leu Met Gln Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 252
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 252
Asn Pro Met Leu Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 253
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 253
Gln Val Leu Gln Pro Ser Trp Gly
 1   5

<210> 254
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 254
Gln Leu Leu Glu Pro Met Trp Gly
 1   5

<210> 255
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 255
Lys Leu Leu Gln Pro Met Trp Gly
 1   5

<210> 256
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 256

Asp Arg Met Gln Pro Tyr Trp Gly
1 5

<210> 257
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 257
Lys Ile Met Gln Pro Leu Trp Gly
1 5

<210> 258
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 258
Asn Leu Met His Pro Phe Trp Gly
1 5

<210> 259
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 259
Ala Leu Leu Gln Pro Leu Trp Gly
1 5

<210> 260
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 260
Arg Leu Leu Glu Pro Ser Trp Gly
1 5

<210> 261
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 261
His Leu Leu Leu Pro Leu Trp Gly
 1   5

<210> 262
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 262
Gln Trp Tyr Lys Ser
 1   5

<210> 263
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 263
Leu Trp Tyr Asp Ser
 1   5

<210> 264
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 264
Gln Trp Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 265
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 265
Gly Cys His Leu Phe Glu Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 266
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 266
Gly Cys Gln Val Met Arg Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 267
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 267
Gly Cys Gln Val Met Gln Pro Ala Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 268
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 268

Gly Cys His Arg Leu Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 269
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 269
Gly Cys Glu Leu Leu Gln Pro Ser Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 270
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 270
Gly Cys Asn Pro Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 271
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 271
Gly Cys Asn Val Leu Leu Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 272
<211> 30
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 272
Gly Cys Asp Ile Met Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 273
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 273
Gly Cys Asp Leu Met Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 274
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 274
Gln Met Phe Asn Ser
 1   5

<210> 275
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 275
Gly Cys Gln Val Leu Gln Pro Ser Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 276
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 276
Gly Cys Gln Leu Met Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 277
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = norleuxin

<400> 277
Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 278
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 278
Gly Cys Gln Leu Met Gln Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr His Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 279
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 279
Gly Cys Gln Leu Leu Glu Pro Met Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 280
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 280
Gly Cys Lys Leu Leu Gln Pro Met Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 281
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 281
Gly Cys Asp Arg Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Trp Tyr Lys Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 282
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 282
Gly Cys Lys Ile Met Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Leu Trp Tyr Asp Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 283
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 283
Gly Cys Asn Leu Met His Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 284
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 284
Gly Cys Ala Leu Leu Gln Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 285
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 285
Gly Cys Arg Leu Leu Glu Pro Ser Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Trp Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 286
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 286
Gly Cys His Leu Leu Leu Pro Leu Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Trp Tyr His Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 287
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 287
Asp Asp Pro Ser Phe Asp Trp Ser Val Tyr
 1   5   10

<210> 288
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 288
Trp Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Leu Tyr
 1   5   10

<210> 289
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 289
Gln Asp Pro Thr Leu Asn Trp Ala Thr Tyr
 1   5   10

<210> 290
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 290
Glu Asp Pro Thr Val Asp Trp Ala Gln Tyr
 1   5   10

<210> 291
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 291
Lys Asp Thr Thr Phe Asn Trp Gly Leu Phe
 1   5   10

<210> 292
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 292
Arg Met Tyr Asp Ser
 1   5

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 293
Gly Cys Asp Asp Pro Ser Phe Asp Trp Ser Val Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Arg Met Tyr Asp Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 294
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 294
Gly Cys Trp Asp Pro Thr Phe Asn Trp Ala Leu Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Asp Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 295
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 295
Gly Cys Gln Asp Pro Thr Leu Asn Trp Ala Thr Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 296
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 296
Gly Cys Glu Asp Pro Thr Val Asp Trp Ala Gln Tyr Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Met Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 297
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 297
Gly Cys Lys Asp Thr Thr Phe Asn Trp Gly Leu Phe Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Leu Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 298
<211> 5

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 298
Gly Pro Glu Leu Asn
 1   5

<210> 299
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 299
Gln Ala Asp Tyr Ala
 1   5

<210> 300
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 300
Gly Val Asp Tyr Leu
 1   5

<210> 301
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 301
Gly Thr Asn Phe Leu
 1   5

<210> 302
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 302
Ser Arg Asp Phe Asp
 1   5

<210> 303
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 303
Asn Arg Asp Phe Leu
 1   5

<210> 304
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 304
Gly Trp Asp Gln Phe
 1   5

<210> 305
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 305
Gly Lys Asp Phe His
 1   5

<210> 306
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 306
Ser Gly Asp Phe Ala
 1   5

<210> 307
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 307
Gly Lys Glu Leu Asn
 1   5

<210> 308
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 308
Gly Trp Ser Met Asp
 1   5

<210> 309
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 309
Gly Tyr Asp Leu Gln
 1   5

<210> 310
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 310
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Pro Glu Leu Asn
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 311
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 311
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gln Ala Asp Tyr Ala
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 312
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 312
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Val Asp Tyr Leu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 313
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 313
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Thr Asn Phe Leu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 314
<211> 30

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 314
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Ser Arg Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 315
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 315
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Asn Arg Asp Phe Leu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 316
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 316
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Trp Asp Gln Phe
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 317
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 317
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Lys Asp Phe His
 1   5   10   15

Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 318
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 318
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Ser Gly Asp Phe Ala
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 319
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 319
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Lys Glu Leu Asn
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 320
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 320
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Trp Ser Met Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 321
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 321
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Tyr Asp Leu Gln
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 322
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 322
Gly Arg Asp Leu Gln
 1   5

<210> 323
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 323
Gly Val Asp Leu Ser
 1   5

<210> 324
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 324
Gly Asp Asp Leu Glu
 1   5

<210> 325
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 325
Gly Val Asp Met Thr
 1   5

<210> 326
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 326
Gly Met Asp Ile Glu
 1   5

<210> 327
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 327
Asp Gly Asp Tyr Gln
 1   5

<210> 328
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 328
Gly Asn Asp Val Ser
 1   5

<210> 329
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 329
Ala Gly Asp Glu Leu
 1   5

<210> 330
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 330
Gly Leu Asp Glu Glu
 1   5

<210> 331
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 331
Asp Gly Asp Phe Asp
 1   5

<210> 332
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 332
Ala Gly Asp Phe Glu
 1   5

<210> 333
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 333

Gly Asn Ser Phe Glu
1 5

<210> 334
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 334
Gly Gln Asp Leu Thr
1 5

<210> 335
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 335
Gly Glu Asn Leu Ala
1 5

<210> 336
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 336
Gly Gln Asp Tyr Asn
1 5

<210> 337
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 337
Gly Ala Asp Leu Ser
1 5

<210> 338
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 338
Gly Phe Asp Met Asp
 1   5

<210> 339
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 339
Asp Leu Asn Tyr Glu
 1   5

<210> 340
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 340
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Leu Gln
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 341
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 341
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Val Asp Leu Ser
 1   5   10   15

Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 342
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 342
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Asp Asp Leu Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 343
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 343
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Val Asp Met Thr
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 344
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 344
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Met Asp Ile Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 345
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 345
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Asp Gly Asp Tyr Gln
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 346
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 346
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Asn Asp Val Ser
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 347
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 347
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Ala Gly Asp Glu Leu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 348
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 348
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Leu Asp Glu Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 349
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 349
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Asp Gly Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 350
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 350
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Ala Gly Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 351
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 351
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Asn Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 352
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 352
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Gln Asp Leu Thr
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 353
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 353
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Glu Asn Leu Ala
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 354
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 354
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Gln Asp Tyr Asn
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 355
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 355
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Ala Asp Leu Ser
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 356
<211> 30

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 356
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Phe Asp Met Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 357
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 357
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Asp Leu Asn Tyr Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 358
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = Q hoặc H hoặc E hoặc N hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = L hoặc V hoặc R hoặc P hoặc I

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = M hoặc F hoặc L

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4

<223> Xaa = Q hoặc E hoặc R hoặc L

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa = F hoặc A hoặc L hoặc S

<400> 358
Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Trp Gly
 1   5

<210> 359
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = R hoặc H

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = N hoặc Q hoặc H

<400> 359
Xaa Trp Tyr Xaa Ser
 1   5

<210> 360
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = H hoặc L hoặc R hoặc Q

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = W hoặc F hoặc Y

<220>

<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = Q hoặc N hoặc K hoặc H hoặc D hoặc E

<400> 360
Xaa Xaa Tyr Xaa Ser
 1   5

<210> 361
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = axetylglyxin

<400> 361
Xaa Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 362
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 8
<223> Xaa = sulfotyrosin, 3,4-diflo-L-phenylalanin,
3,4-diclo-L-phenylalanin, 4-clo-L-phenylalanin,
3-F,4-Cl-L-phenylalanin, 2-pyridon(NH para)-L-alanin,
or pyridon(NH meta)-L-alanin

<400> 362
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Xaa Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 363

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 363
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 364
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 364
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 365
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 365
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 366
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 366
Gly Cys Gln Ala Ile Asn Arg Val Lys Arg Gln Arg Cys Lys Gln Asp
 1   5   10   15
Ser Asp Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gly Pro Asn Gly Phe Cys Gly
            20   25   30

<210> 367
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 367
Gln Ala Ile Asn Arg Val Lys Arg Gln Arg
 1   5   10

<210> 368
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 368
Asn Pro Met Leu Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 369
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 369
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Pro Leu
            20   25   30
Ile

<210> 370

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 370
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Asn Tyr
            20   25   30
Gln

<210> 371
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 371
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Pro Leu
            20   25   30
Gln

<210> 372
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 372
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Thr Phe
            20   25   30
Gln

<210> 373
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 373
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Asp Leu
            20   25   30
Val

<210> 374
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 374
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Glu His
            20   25   30
Lys

<210> 375
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 375
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Tyr Leu
            20   25   30
Ser

<210> 376
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 376
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Trp Asp
20 25 30
Tyr

<210> 377
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 377
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Trp Pro
20 25 30
His

<210> 378
<211> 33
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 378
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Pro His
20 25 30
Gln

<210> 379
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 379
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu

```
 1               5                  10                  15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Phe His
            20                  25                  30
```

<210> 380
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 380

```
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1               5                  10                  15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Ile Ala
            20                  25                  30
```

<210> 381
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 381

```
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1               5                  10                  15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gly Ser
            20                  25                  30
```

<210> 382
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 382

```
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1               5                  10                  15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Thr Arg
            20                  25                  30
```

<210> 383
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 383
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Val His
            20   25   30

<210> 384
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 384
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Leu Ser
            20   25   30

<210> 385
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 385
Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly
 1   5

<210> 386
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 386
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 387
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 387
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Thr
            20   25   30

<210> 388
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 388
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Trp Lys
            20   25   30

<210> 389
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 389
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Leu
            20   25   30

<210> 390
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 390

Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asp Glu
20 25 30

<210> 391
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 391
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gln Phe
20 25 30

<210> 392
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 392
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Glu Gln
20 25 30

<210> 393
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 393
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Thr
20 25 30

<210> 394
<211> 32
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 394
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Leu
            20   25   30

<210> 395
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 395
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Leu
            20   25   30

<210> 396
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 396
Asn Ile Leu Leu Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 397
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 397
Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly
 1   5

<210> 398

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 398
Asn Ile Met Ser Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 399
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 399
Asn Ile Met Thr Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 400
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 400
Asn Ile Met Gln Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 401
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 401
Asn Ile Met Asn Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 402
<211> 8
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 402
Asn Ile Met Glu Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 403
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 403
Asn Ile Met Asp Pro Phe Trp Gly
 1   5

<210> 404
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = benzyl-L-prolin, 4-flo-benzyl-L-prolin,
3-OH-L-prolin, 3-flo-L-prolin, hoặc
triflometyl-benzyl-L-prolin

<400> 404
Asn Ile Met Leu Xaa Phe Trp Gly
 1   5

<210> 405
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 405
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15

Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 406
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 406
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 407
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 407
Gly Cys Asn Ile Met Ser Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 408
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 408
Gly Cys Asn Ile Met Thr Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 409
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 409
Gly Cys Asn Ile Met Gln Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 410
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 410
Gly Cys Asn Ile Met Asn Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 411
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 411
Gly Cys Asn Ile Met Glu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 412
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 412
Gly Cys Asn Ile Met Asp Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 413
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 7
<223> Xaa = benzyl-L-prolin, 4-flo-benzyl-L-prolin,
3-OH-L-prolin, 3-flo-L-prolin, hoặc triflometyl-benzyl-L-prolin

<400> 413
Gly Cys Asn Ile Met Leu Xaa Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 414
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 414
Asn Ile Met Leu Pro Ser Trp Gly
 1   5

<210> 415
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 415
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Ser Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 416
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 7
<223> Xaa = N-metyl indol, N-etyl indol,
N-isopropyl indol, hoặc 5-aza-indol

<400> 416
Asn Ile Met Leu Pro Tyr Xaa Gly
 1   5

<210> 417
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 9
<223> Xaa = N-metyl indol, N-etyl indol, N-isopropyl indol,
or 5-aza-indol

<400> 417
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Xaa Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 418
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin,
2-quinolyl-Alanin, 4-biphenyl-L-alanin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4

<223> Xaa = 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, hoặc benzothiophen-L-alanin, 3-isoquinolinyl-L-alanin

<400> 418
Gly Arg Asp Xaa Glu
1 5

<210> 419
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 15
<223> Xaa = 4-metyl-L-phenylalanin, 2-naphtyl-L-alanin, 2-quinolyl-Alanin, 4-biphenyl-L-alanin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 15
<223> Xaa = 3-(3-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinolinyl)-L-alanin, 3-(2-quinoxalinyl)-L-alanin, 4-metyl-2-pyridyl-alanin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 15
<223> Xaa = 4-etyl-2-pyridyl-L-alanin, benzothiazol-L-alanin, benzothiophen-L-alanin, hoặc 3-isoquinolinyl-L-alanin

<400> 419
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Xaa Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 420
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 18
<223> Xaa = t-butyl-L-alanin, xyclobutyl-L-alanin,
xyclopentyl-L-alanin, hoặc 5,5,5-Triflo-L-leuxin

<400> 420
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Xaa Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 421
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 421
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 422
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 422
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Thr Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 423
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 423

Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Glu Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 424
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 424
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Leu Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 425
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 425
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 426
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 22
<223> Xaa = t-butyl-L-glyxin (còn được gọi là L-tert-Leuxin), t-butyl-L-alanin, L-xyclopentylglyxin, xyclopentyl-L-alanin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 22
<223> Xaa = L-xyclobutyl-L-glyxin, xyclobutyl-L-alanin, hoặc

5,5,5-Triflo-L-leuxin

<400> 426
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Xaa Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 427
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 2
<223> Xaa = 2-pyridon, 3,4-hydroxy phenylalanin,
3,4-flo phenylalanin, hoặc 3-Flo,4-OH phenylalanin

<400> 427
Gln Xaa Tyr Gln Ser
 1   5

<210> 428
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 25
<223> Xaa = 2-pyridon, 3,4-hydroxy phenylalanin,
3,4-flo phenylalanin, hoặc 3-Flo,4-OH phenylalanin

<400> 428
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Xaa Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 429
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = 2-Clo Tyrosin, 2-Metyl Tyrosin,
2-Etyl Tyrosin, hoặc 1-naphthol alanin

<400> 429
Gln Tyr Xaa Gln Ser
 1   5

<210> 430
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 26
<223> Xaa = 2-Clo Tyrosin, 2-Metyl Tyrosin,
2-Etyl Tyrosin, hoặc 1-naphthol alanin

<400> 430
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Xaa Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 431
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 431
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Ser
            20   25   30

<210> 432
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 30
<223> Xaa = D-serine, L-beta-homoserin, L-beta-alanin,
N-alpha-metyl Glyxin, glyxin amit, este glyxin của glyxerol

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 30
<223> Xaa = este glyxin của glycol, este glyxin của
rượu oxetan-3-yl, glyxin morpholin amit

<400> 432
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Xaa
            20   25   30

<210> 433
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = norleuxin

<400> 433
Asn Ile Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly
 1   5

<210> 434
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 434
Asn Ile Leu Gln Pro Tyr Trp Gly
 1   5

<210> 435
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 435
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 436
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 436
Gly Cys Asn Ile Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 437
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 18
<223> Xaa = norleuxin hoặc xyclobutyl-L-alanin

<400> 437

Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Xaa Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 438
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 438
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 439
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 18
<223> Xaa = xyclobutyl-L-alanin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 22
<223> Xaa = xyclobutyl-L-glyxin, xyclobutyl-L-alanin
or norleuxin

<400> 439
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Xaa Glu Gln Cys Xaa Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly

20 25 30

<210> 440
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 18
<223> Xaa = xyclobutyl-L-alanin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 22
<223> Xaa = xyclobutyl-L-glyxin hoặc xyclobutyl-L-alanin

<400> 440
Gly Cys Asn Ile Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Xaa Glu Gln Cys Xaa Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 441
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 18
<223> Xaa = xyclobutyl-L-alanin hoặc t-butyl-L-alanin

<400> 441
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
1 5 10 15
Cys Xaa Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 442

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 22
<223> Xaa = xyclobutyl-L-glyxin hoặc xyclobutyl-L-alanin

<400> 442
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Gln Cys Xaa Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 443
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = axetylglyxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 30
<223> Xaa = glyxin amit

<400> 443
Xaa Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Xaa
            20   25   30

<210> 444
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = axetylglyxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 30
<223> Xaa = glyxin amit

<400> 444
Xaa Cys Asn Ile Leu Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Xaa
            20   25   30

<210> 445
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = axetylglyxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 30
<223> Xaa = glyxin amit

<400> 445
Xaa Cys Asn Ile Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Xaa
            20   25   30

<210> 446
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>

<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = axetylglyxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 30
<223> Xaa = glyxin amit

<400> 446
Xaa Cys Asn Ile Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Glu Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Xaa
            20   25   30

<210> 447
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 18
<223> Xaa = xyclobutyl-L-alanin hoặc t-butyl-L-alanin

<400> 447
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Xaa Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 448
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 22
<223> Xaa = xyclobutyl-L-glyxin

<400> 448
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Xaa Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 449
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 18
<223> Xaa = xyclobutyl-L-alanin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 22
<223> Xaa = xyclobutyl-L-glyxin hoặc xyclobutyl-L-alanin

<400> 449
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Xaa Ser Asn Cys Xaa Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 450
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 18
<223> Xaa = xyclobutyl-L-alanin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 22
<223> Xaa = xyclobutyl-L-glyxin hoặc xyclobutyl-L-alanin

<400> 450
Gly Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Xaa Ser Asn Cys Xaa Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly

20 25 30

<210> 451
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = axetylglyxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 18
<223> Xaa = xyclobutyl-L-alanin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 22
<223> Xaa = xyclobutyl-L-glyxin hoặc xyclobutyl-L-alanin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 30
<223> Xaa = glyxin amit

<400> 451
Xaa Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
1 5 10 15
Cys Xaa Ser Asn Cys Xaa Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Xaa
20 25 30

<210> 452
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = axetylglyxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5

<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 30
<223> Xaa = glyxin amit

<400> 452
Xaa Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Xaa
            20   25   30

<210> 453
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = axetylglyxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 30
<223> Xaa = glyxin amit

<400> 453
Xaa Cys Asp Val Leu Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asn Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Xaa
            20   25   30

<210> 454
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 3
<223> Xaa = M hoặc L

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 4
<223> Xaa = L hoặc S hoặc T hoặc Q hoặc N hoặc E hoặc D

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa = F hoặc Y hoặc S

<400> 454
Asn Ile Xaa Xaa Pro Xaa Trp Gly
1 5

<210> 455
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 455
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Phe His
20 25 30

<210> 456
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 456
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Leu
20 25 30

<210> 457
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 457
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15

Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gly Glu
20 25 30

<210> 458
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 458
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Val Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Ser Ile
20 25 30

<210> 459
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 459
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gly Arg
20 25 30

<210> 460
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 460
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Arg Pro
20 25 30

<210> 461
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 461
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gln Tyr
            20   25   30

<210> 462
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 462
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Glu Asn
            20   25   30

<210> 463
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 463
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Asp Thr
            20   25   30

<210> 464
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 464
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gln His
            20   25   30

<210> 465
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 465
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gln Asn
            20   25   30

<210> 466
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 466
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Glu Glu
            20   25   30

<210> 467
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 467
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Asp Asp
            20   25   30

<210> 468
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 468
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Asp Gly
            20   25   30

<210> 469
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 469
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Leu Glu
            20   25   30

<210> 470
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 470
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Thr Asp
            20   25   30

<210> 471
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 471
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Ser Glu
            20   25   30

<210> 472
<211> 32

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 472
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Pro Glu
            20   25   30

<210> 473
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 473
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Thr Asn
            20   25   30

<210> 474
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 474
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Pro His
            20   25   30

<210> 475
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 475
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
 1   5   10   15

Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Met Asp
20 25 30

<210> 476
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 476
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Ser Asp
20 25 30

<210> 477
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 477
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Ile Ala
20 25 30

<210> 478
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 478
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 479
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 479
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Thr Arg
20 25 30

<210> 480
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 480
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Val His
20 25 30

<210> 481
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 481
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Ser
20 25 30

<210> 482
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 482
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Phe Ser
20 25 30

<210> 483
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 483
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gly Lys
            20   25   30

<210> 484
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 484
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Tyr Leu
            20   25   30

<210> 485
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 485
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asp Leu
            20   25   30

<210> 486
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 486
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Glu Lys
20 25 30

<210> 487
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 487
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Thr Asp
20 25 30

<210> 488
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 488
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gln Val
20 25 30

<210> 489
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 489
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Leu
20 25 30

<210> 490
<211> 32

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 490
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Tyr Ala
            20   25   30

<210> 491
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 491
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ala Ser
            20   25   30

<210> 492
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 492
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Arg
            20   25   30

<210> 493
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 493
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15

Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Thr
20 25 30

<210> 494
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 494
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Trp Asp
20 25 30

<210> 495
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 495
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Met
20 25 30

<210> 496
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 496
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Thr Arg
20 25 30

<210> 497
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 497
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Lys Gln Asp Ser Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Glu Asn
20 25 30

<210> 498
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 498
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asn Asn
20 25 30

<210> 499
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 499
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Glu
20 25 30

<210> 500
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 500
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gly Ile
20 25 30

<210> 501
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 501
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Val Glu
            20   25   30

<210> 502
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 502
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Leu
            20   25   30

<210> 503
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 503
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Leu
            20   25   30

<210> 504
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 504
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Pro
            20   25   30

<210> 505
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 505
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asn Asp
            20   25   30

<210> 506
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 506
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Leu Gln
            20   25   30

<210> 507
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 507
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asp Glu
            20   25   30

<210> 508
<211> 32

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 508
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Thr
            20   25   30

<210> 509
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 509
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Ile Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gln Val
            20   25   30

<210> 510
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 510
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gly Ile
            20   25   30

<210> 511
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 511
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15

Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Tyr Met
20 25 30

<210> 512
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 512
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gly Gln
20 25 30

<210> 513
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 513
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Thr Pro
20 25 30

<210> 514
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 514
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Val Asn
20 25 30

<210> 515
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 515
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Phe Asn
            20   25   30

<210> 516
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 516
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Glu Pro
            20   25   30

<210> 517
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 517
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asn Ser
            20   25   30

<210> 518
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 518
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Thr
            20   25   30

<210> 519
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 519
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Arg Tyr
20 25 30

<210> 520
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 520
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Phe Ser
20 25 30

<210> 521
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 521
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gln Val
20 25 30

<210> 522
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 522
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Tyr Ala
            20   25   30

<210> 523
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 523
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Arg
            20   25   30

<210> 524
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 524
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Pro Thr
            20   25   30

<210> 525
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 525
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Ser Met
            20   25   30

<210> 526
<211> 32

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 526
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gly Ile
            20   25   30

<210> 527
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 527
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Thr Ser
            20   25   30

<210> 528
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 528
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Leu Gln
            20   25   30

<210> 529
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 529
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
 1   5   10   15

Cys Leu Val Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asp Glu
20 25 30

<210> 530
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 530
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Asp Leu
20 25 30

<210> 531
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 531
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Val Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Gln Phe
20 25 30

<210> 532
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 532
Gly Cys Asp Val Met Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Glu Met Asp Phe Asp
1 5 10 15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly Trp Lys
20 25 30

<210> 533
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 533
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Gln Ser Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Gly Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly Leu Ser
            20   25   30

<210> 534
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = D hoặc E

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = N, K, hoặc ornithin

<400> 534
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Xaa
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Xaa Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 535
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>

<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = N, K, hoặc ornithin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = D hoặc E

<400> 535
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Xaa
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Xaa Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 536
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 536
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Lys Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 537
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = ornithin

<400> 537
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Asp
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Xaa Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 538
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = D hoặc E

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = N, K, hoặc ornithin

<400> 538
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Met Glu Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 539
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = N hoặc K hoặc ornithin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = D hoặc E

<400> 539
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Met Glu Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 540
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = D hoặc E

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = N hoặc K hoặc ornithin

<400> 540
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Val Ser Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 541
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5

<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = N hoặc K hoặc ornithin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = D hoặc E

<400> 541
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Val Ser Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 542
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 542
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Lys Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 543
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 543
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Lys Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 544
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = ornithin

<400> 544
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Met Glu Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 545
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 545
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Ser Lys Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 546
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>

<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = ornithin

<400> 546
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Ser Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 547
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 547
Gly Cys Asn Ile Leu Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Ser Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 548
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 548
Gly Cys Asn Ile Leu Gln Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Val Ser Gln Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 549
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = D hoặc E

<400> 549
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Lys
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Xaa Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 550
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 550
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Lys
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Asp Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 551
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 551
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Lys
 1   5   10   15
Cys Leu Ser Glu Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly

20 25 30

<210> 552
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = ornithin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = D hoặc E

<400> 552
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Xaa
1 5 10 15
Cys Leu Ser Xaa Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 553
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = ornithin

<400> 553
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Xaa
1 5 10 15

Cys Leu Ser Asp Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 554
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = ornithin

<400> 554
Gly Cys Asp Val Xaa Gln Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Pro Asp Ile Xaa
1 5 10 15
Cys Leu Ser Glu Cys Ile Cys His Trp Tyr Asn Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 555
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = D hoặc E

<400> 555
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys
1 5 10 15
Cys Met Glu Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 556
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 556
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys
 1   5   10   15
Cys Met Glu Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 557
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<400> 557
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys
 1   5   10   15
Cys Met Glu Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 558
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>

<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = ornithin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = D hoặc E

<400> 558
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Met Glu Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 559
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = ornithin

<400> 559
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Met Glu Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 560
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5, 16
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = ornithin

<400> 560
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Met Glu Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 561
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = D hoặc E

<400> 561
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys
 1   5   10   15
Cys Val Ser Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 562
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = norleuxin

<400> 562
Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys Cys
 1   5   10   15

Val Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25

<210> 563
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = norleuxin

<400> 563
Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Lys Cys
1 5 10 15
Val Ser Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25

<210> 564
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = ornithin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = D hoặc E

<400> 564
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
1 5 10 15
Cys Val Ser Xaa Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
20 25 30

<210> 565
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 16
<223> Xaa = ornithin

<400> 565
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Val Ser Asp Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 566
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = norleuxin

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 516
<223> Xaa = ornithin

<400> 566
Gly Cys Asn Ile Xaa Leu Pro Phe Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Xaa
 1   5   10   15
Cys Val Ser Glu Cys Ile Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30

<210> 567
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 567
Arg Trp Tyr Glu Ser
 1   5

<210> 568
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 20
<223> Xaa = ornithin

<400> 568
Gly Cys Asn Ile Met Leu Pro Tyr Trp Gly Cys Gly Arg Asp Phe Glu
 1   5   10   15
Cys Leu Ala Xaa Cys Val Cys Gln Tyr Tyr Gln Ser Cys Gly
            20   25   30