



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(51)⁷ C07K 16/28; G01N 33/569; G01N 33/574; C12N 15/85 (13) B



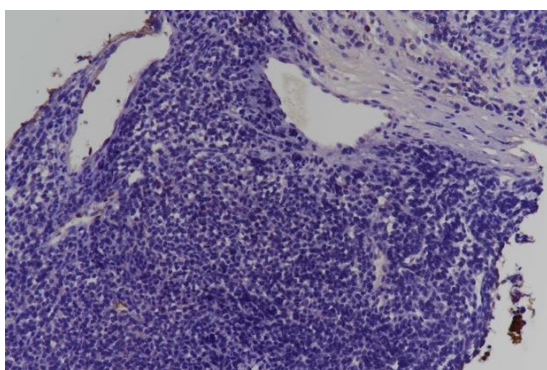
1-0043806

(21) 1-2019-05967 (22) 23/03/2018
(86) PCT/JP2018/011895 23/03/2018 (87) WO 2018/181064 04/10/2018
(30) 2017-061389 27/03/2017 JP
(45) 25/03/2025 444 (43) 25/03/2020 384A
(73) 1. NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION HOKKAIDO UNIVERSITY (JP)
Kita 8-jyo Nishi 5-chome, Kita-ku, Sapporo-shi, Hokkaido 0600808, Japan
2. FUSO PHARMACEUTICAL INDUSTRIES, LTD. (JP)
7-10, Dosho-machi 1-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 5410045, Japan
(72) KONNAI, Satoru (JP); OHASHI, Kazuhiko (JP); MURATA, Shiro (JP);
OKAGAWA, Tomohiro (JP); NISHIMORI, Asami (JP); MAEKAWA, Naoya (JP);
TAKAGI, Satoshi (JP); KAGAWA, Yumiko (JP); SUZUKI, Yasuhiko (JP);
NAKAJIMA, Chie (JP).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

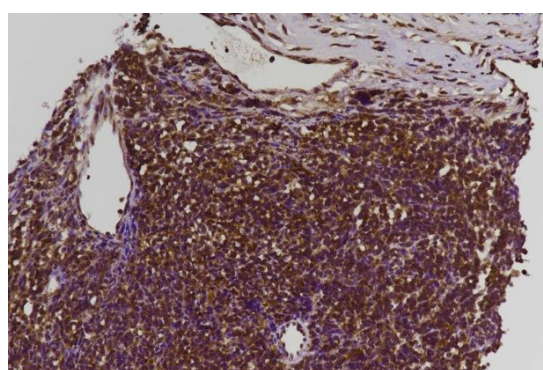
(54) KHÁNG THỂ KHÁNG PD-L1 ĐỂ PHÁT HIỆN PD-L1 VÀ CHẾ PHẨM BAO GỒM KHÁNG THỂ NÀY

(21) 1-2019-05967

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể kháng PD-L1 có khả năng nhuộm tế bào u như tế bào u hắc sắc tố. Kháng thể kháng PD-L1 bao gồm (a) chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 có trình tự axit amin KSISKY (SEQ ID NO: 1), CDR2 có trình tự axit amin SGS và CDR3 có trình tự axit amin QQHNEYPLT (SEQ ID NO: 2) và (b) chuỗi nặng bao gồm CDR1 có trình tự axit amin GYTFTDYI (SEQ ID NO: 3), CDR2 có trình tự axit amin INPDSSGGN (SEQ ID NO: 4) và CDR3 có trình tự axit amin ARGITMMVVISHWKDFD (SEQ ID NO: 5). Chế phẩm dùng để phát hiện PD-L1, bao gồm kháng thể nêu trên làm hoạt chất. Phương pháp điều chế kháng thể nêu trên cũng được đề xuất.



Kháng thể thương mại (kháng thể MelanA)



Kháng thể chuột cống kháng PD-L1 của bò

FIG. 3

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến kháng thể kháng PD-L1 để phát hiện PD-L1.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

U hắc sắc tố ác tính có nguồn gốc từ các tế bào melanin là một trong số các u ác tính thường gặp nhất trong khoang miệng của chó (Tài liệu phi sáng chế số 1: Todoroff et al., J Am Vet Med Assoc. 1979 Sep 15; 175(6):567-71). Do loại u hắc sắc tố này thường có xu hướng xâm lấn và di căn cao, việc chẩn đoán và điều trị sớm là cần thiết. Mặt khác, u hắc sắc tố ác tính có biến đổi mô rộng, biểu hiện nhiều hình thái như dạng biểu mô, dạng tế bào tròn hoặc dạng ung thư mô liên kết sợi. Do đó, u hắc sắc tố ác tính là một trong số các u khó chẩn đoán mô. Mặc dù việc xác nhận sắc tố melanin là quan trọng để chẩn đoán chúng, rất nhiều u hắc sắc tố ác tính không có sắc tố melanin và, đôi khi, việc chẩn đoán không thể thực hiện được chỉ bằng các quan sát mô học. Điều này dẫn đến các nghiên cứu về các dấu ấn chẩn đoán mà có thể được sử dụng trong các kỹ thuật hóa mô miễn dịch. Trong số các dấu ấn như vậy, Melan A/MART-1, vimentin, S100, enolaza đặc hiệu với neuron và dạng tương tự đã được thông báo là hữu ích (Tài liệu phi sáng chế số 2: Ramos-Vara et al., Vet Pathol. 2000 Nov; 37(6):597-608). Tuy nhiên, ngay cả Melan A/MART-1, dấu ấn chẩn đoán được sử dụng rộng rãi nhất, có tỷ lệ dương tính không cao hơn khoảng 60% mà tỷ lệ này thay đổi giữa các thông báo (Tài liệu phi sáng chế số 3: Koenig et al., Vet Pathol. 2001 Jul; 38(4):427-35). Do vấn đề độ nhạy này, tiện ích của Melan A/MART-1 trong chẩn đoán thực tế là vẫn còn gây tranh cãi. Ngoài ra, Melan A/MART-1 không bị nhuộm trong u hắc sắc tố melanin (Tài liệu phi sáng chế số 3: Koenig et al., Vet Pathol. 2001 Jul; 38(4):427-35), nên ứng dụng của nó trong chẩn đoán bị hạn chế. Trong các trường hợp này, cần phát triển các dấu ấn chẩn đoán mới, có độ nhạy cao đối với u hắc sắc tố ác tính.

Tài liệu viện dẫn

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế số 1: Todoroff et al., J Am Vet Med Assoc. 1979 Sep 15;

175(6):567-71

Tài liệu phi sáng chế số 2: Ramos-Vara et al., Vet Pathol. 2000 Nov; 37(6):597-608

Tài liệu phi sáng chế số 3: Koenig et al., Vet Pathol. 2001 Jul; 38(4):427-35

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất kháng thể kháng PD-L1 có khả năng nhuộm tế bào u như tế bào u hắc sắc tố.

Các tác giả sáng chế đã thiết lập nhiều kháng thể đơn dòng mà phản ứng với protein PD-L1 của các động vật khác nhau. Đã phát hiện ra rằng, trong số các kháng thể đơn dòng này, kháng thể đơn dòng của chuột cống kháng PD-L1 của bò (6C11-3A11) có khả năng nhuộm tế bào u hắc sắc tố rất mạnh. Hiện nay, kháng thể đơn dòng này được sử dụng để chọn các con chó tuyển chọn cho trị liệu bằng kháng thể dạng khảm. Kháng thể PD-L1 theo sáng chế (6C11-3A11) cũng có khả năng nhuộm hóa mô miễn dịch các protein PD-L1 của cừu, lợn và bò. Ngoài ra, các tác giả sáng chế đã xác định các CDR (các vùng quyết định tính bổ trợ) của các vùng biến đổi của kháng thể PD-L1 theo sáng chế (6C11-3A11). Sáng chế đã đạt được trên cơ sở các phát hiện này.

Tóm tắt về sáng chế là như được mô tả dưới đây.

- (1) Kháng thể kháng PD-L1 bao gồm (a) chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 có trình tự axit amin KSISKY (SEQ ID NO: 1), CDR2 có trình tự axit amin SGS và CDR3 có trình tự axit amin QQHNEYPLT (SEQ ID NO: 2) và (b) chuỗi nặng bao gồm CDR1 có trình tự axit amin GYTFTDYI (SEQ ID NO: 3), CDR2 có trình tự axit amin INPDSGGN (SEQ ID NO: 4) và CDR3 có trình tự axit amin ARGITMMVVISHWKDFD (SEQ ID NO: 5).
- (2) Kháng thể theo mục (1) trên đây, mà có nguồn gốc từ chuột cống.
- (3) Kháng thể theo mục (2) trên đây, mà là kháng thể chuột cống kháng PD-L1 của bò.
- (4) Kháng thể theo mục (3) trên đây, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO. 6 và vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 7.
- (5) Kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (4) trên đây, trong đó vùng ổn định của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi kappa.

- (6) Kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (5) trên đây, trong đó vùng ổn định của chuỗi nặng có trình tự axit amin của vùng ổn định của IgG2a.
- (7) Kháng thể theo mục (5) hoặc (6) trên đây, trong đó vùng ổn định của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong bất kỳ SEQ ID NO: 8, 10 đến 12 và vùng ổn định của chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 9 hoặc 13.
- (8) Kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (7) trên đây mà có cấu trúc bốn chuỗi bao gồm hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng.
- (9) Chế phẩm dùng để phát hiện PD-L1, bao gồm kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (8) trên đây làm hoạt chất.
- (10) Chế phẩm theo mục (9) trên đây dùng để chẩn đoán bệnh ung thư và/hoặc bệnh viêm.
- (11) Chế phẩm theo mục (10) trên đây, trong đó bệnh ung thư và/hoặc bệnh viêm được chọn từ nhóm gồm bệnh tân sinh, bệnh bạch cầu, bệnh Johne, bệnh biên trùng, bệnh viêm vú do vi khuẩn, bệnh viêm vú do nấm, bệnh nhiễm trùng do mycoplasma (như bệnh viêm vú do mycoplasma, bệnh viêm phổi do mycoplasma hoặc dạng tương tự), bệnh lao, bệnh nhiễm trùng do *Theileria orientalis*, bệnh do Cryptosporidia, bệnh nhiễm trùng do coccidia, bệnh nhiễm trùng do trypanosoma và bệnh nhiễm trùng do leishmania.
- (12) Chế phẩm theo mục (9) trên đây để dùng trong việc chọn đối tượng động vật thích hợp để điều trị bằng kháng thể kháng PD-L1.
- (13) ADN mã hóa kháng thể kháng PD-L1 theo mục (1) trên đây.
- (14) Vector bao gồm ADN theo mục (13) trên đây.
- (15) Tế bào chủ được biến nạp bằng vector theo mục (14) trên đây.
- (16) Phương pháp điều chế kháng thể, bao gồm nuôi cấy tế bào chủ theo mục (15) trên đây và thu kháng thể kháng PD-L1 từ môi trường nuôi cấy thu được.
- (17) ADN mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng PD-L1, chuỗi nhẹ nói trên bao gồm CDR1 có trình tự axit amin KSISKY (SEQ ID NO: 1), CDR2 có trình tự axit amin SGS và CDR3 có trình tự axit amin QQHNEYPLT (SEQ ID NO: 2).

(18) ADN mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng PD-L1, chuỗi nặng nói trên bao gồm CDR1 có trình tự axit amin GYTFTDYI (SEQ ID NO: 3), CDR2 có trình tự axit amin INPDSGGN (SEQ ID NO: 4) và CDR3 có trình tự axit amin ARGITMMVVISHWKDFD (SEQ ID NO: 5).

Hiệu quả của sáng chế

Theo sáng chế, kháng thể kháng PD-L1 mới có khả năng nhuộm tế bào u, như tế bào u hắc sắc tố, đã được thu.

Bản mô tả này bao hàm các nội dung được bộc lộ trong bản mô tả và/hoặc hình vẽ của đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Nhật Bản số 2017-61389 là đơn ưu tiên của đơn hiện tại.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

[Fig. 1] Tính đặc hiệu liên kết (tính đặc hiệu gắn kết) của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11. Kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 không liên kết với tế bào biểu hiện EGFP, nhưng liên kết đặc hiệu với tế bào biểu hiện PD-L1 của chó-EGFP.

[Fig. 2] Các vùng CDR dự đoán của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11. Các vùng CDR1, CDR2 và CDR3 trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 được thể hiện.

[Fig. 3] Các ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch so sánh của u hắc sắc tố ở chó. Bên trái: được nhuộm bằng kháng thể thương mại (kháng thể MelanA). Các tế bào u được nhuộm rất yếu. Bên phải: được nhuộm bằng kháng thể PD-L1 6C11-3A11 được thiết lập bởi các tác giả sáng chế. Các tế bào u được nhuộm rất mạnh.

[Fig. 4] Ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch của u hắc sắc tố ở chó.

[Fig. 5-1] Các ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch của các u khác. Phía trên bên trái: trường hợp u lympho ở chó. Phía trên bên phải: trường hợp bệnh ung thư mô liên kết xương ở chó. Phía dưới bên trái: trường hợp 1 của bệnh ung thư biểu mô tế bào thận ở chó. Phía dưới bên phải: trường hợp 2 của bệnh ung thư biểu mô tế bào thận ở chó.

[Fig. 5-2] Các ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch của các u khác. Bên trái: trường

hợp bệnh ung thư biểu mô tế bào vảy ở chó. Bên phải: trường hợp bệnh ung thư mô liên kết sợi ở chó.

[Fig. 6] Ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch của trường hợp bệnh nhiễm listeria ở cừu. Bên trái: Ảnh nhuộm PD-L1 của tổn thương não của bệnh nhiễm listeria ở cừu biểu hiện các triệu chứng thần kinh. Bên phải: Ảnh chụp phóng đại của ảnh bên trái.

[Fig. 7] Các ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch của các bệnh nhiễm trùng ở lợn. Bên trái: trường hợp bệnh nhiễm circovirus typ 2 ở lợn. Bên phải: trường hợp bệnh viêm phổi do mycoplasma ở lợn.

[Fig. 8] Sắp hàng các trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi kappa của Ig chuột cống (chuỗi nhẹ).

[Fig. 9] Sắp hàng các trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi IgG2a chuột cống (chuỗi nặng).

[Fig. 10] Sơ đồ hình vẽ của vector pDC6 và kháng thể kháng PD-L1 dạng khám chuột cống-người.

[Fig. 11] Sự liên kết của các kháng thể chuột cống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 và 6G7-E1 với tế bào biểu hiện PD-L1 của chó-EGFP. 6C11-3A11 liên kết đặc hiệu với tế bào biểu hiện PD-L1 của chó-EGFP.

[Fig. 12] Các ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch của bệnh ung thư biểu mô tế bào vảy da, bệnh ung thư biểu mô tuyến mũi và bệnh ung thư biểu mô tế bào chuyển tiếp ở chó. Không có tín hiệu cụ thể nào được phát hiện với 6G7-E1. Các tế bào u được nhuộm bằng 6C11-3A11.

[Fig. 13] Các ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch của bệnh ung thư biểu mô tuyến túi hậu môn, bệnh ung thư mô liên kết mềm và bệnh ung thư mô liên kết xương ở chó. Trong bệnh ung thư biểu mô tuyến túi hậu môn và bệnh ung thư mô liên kết mềm, không có tín hiệu cụ thể nào được phát hiện với 6G7-E1, nhưng các tế bào u được nhuộm bằng 6C11-3A11. Trong bệnh ung thư mô liên kết xương, cả hai kháng thể đều nhuộm tế bào u, nhưng thu được các tín hiệu mạnh hơn với 6C11-3A11.

[Fig. 14] Các ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch của u hắc sắc tố ác tính miệng, bệnh ung thư biểu mô tuyến vú, bệnh ung thư mô liên kết mô bào, u lympho tế bào B lớn lan

tỏa và u lây truyền qua đường giao cấu ở chó bằng cách sử dụng 6C11-3A11. Trong các loại u không phải u lây truyền qua đường giao cấu, PD-L1 trên các tế bào u được nhuộm.

[Fig. 15] Sự liên kết của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 với tế bào biểu hiện PD-L1 của bò-EGFP. 6C11-3A11 liên kết đặc hiệu với tế bào biểu hiện PD-L1 của bò-EGFP.

[Fig. 16] Các ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch của các tổn thương hồi tràng của gia súc được gây nhiễm tự nhiên và thực nghiệm bằng *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, bằng cách sử dụng (a) 6C11-3A11 và (b) phép nhuộm Ziehl-Neelsen. 6C11-3A11 phát hiện sự biểu hiện của PD-L1 trong các tế bào bị nhiễm *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (dương tính trong phép nhuộm Ziehl-Neelsen).

Mô tả chi tiết sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết.

Sáng chế đề xuất kháng thể kháng PD-L1 bao gồm (a) chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 có trình tự axit amin KSISKY (SEQ ID NO: 1), CDR2 có trình tự axit amin SGS và CDR3 có trình tự axit amin QQHNEYPLT (SEQ ID NO: 2) và (b) chuỗi nặng bao gồm CDR1 có trình tự axit amin GYTFTDYI (SEQ ID NO: 3), CDR2 có trình tự axit amin INPDSGGN (SEQ ID NO: 4) và CDR3 có trình tự axit amin ARGITMMVVISHWKDFD (SEQ ID NO: 5).

CDR1, CDR2 và CDR3 trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (VL) của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 (kháng thể đơn dòng) được thiết lập bởi các tác giả sáng chế lần lượt là vùng gồm trình tự axit amin KSISKY (SEQ ID NO: 1), vùng gồm trình tự axit amin SGS và vùng gồm trình tự axit amin QQHNEYPLT (SEQ ID NO: 2) (xem Fig. 2).

Ngoài ra, CDR1, CDR2 và CDR3 trong vùng biến đổi của chuỗi nặng (VH) của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 lần lượt là vùng gồm trình tự axit amin GYTFTDYI (SEQ ID NO: 3), vùng gồm trình tự axit amin INPDSGGN (SEQ ID NO: 4) và vùng gồm trình tự axit amin ARGITMMVVISHWKDFD (SEQ ID NO: 5) (xem Fig. 2).

trong các trình tự axit amin KSISKY (SEQ ID NO: 1), SGS và QQHNEYPLT

(SEQ ID NO: 2), cũng như các trình tự axit amin GYTFTDYI (SEQ ID NO: 3), INPDSGGN (SEQ ID NO: 4) và ARGITMMVVISHWKFD (SEQ ID NO: 5), một, hai, ba, bốn hoặc năm axit amin có thể được làm mất, thay thế hoặc bổ sung. Ngay cả khi các đột biến như vậy được đưa vào, các trình tự axit amin thu được là có khả năng có chức năng như CDR của VL hoặc CDR của VH của kháng thể PD-L1.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “kháng thể” là khái niệm bao hàm không những kháng thể có chiều dài đầy đủ mà còn kháng thể có kích thước nhỏ hơn như Fab, F(ab)₂, ScFv, kháng thể hai thành phần (Diabody), V_H, V_L, Sc(Fv)₂, sc(Fv)₂ hai đặc hiệu, kháng thể mini, monome scFv-Fc và dimer scFv-Fc.

Kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế có thể được tạo ra từ chuột cống. Ví dụ, kháng thể kháng PD-L1 có thể là kháng thể chuột cống kháng PD-L1 của bò.

Trình tự axit amin của VL và trình tự axit amin của VH của kháng thể chuột cống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 (kháng thể đơn dòng) lần lượt được thể hiện trong các SEQ ID NO: 6 và 7. Các trình tự axit amin như nêu trong các SEQ ID NO: 6 và 7 có thể mất, thay thế hoặc bổ sung một hoặc vài axit amin (ví dụ, lên đến năm axit amin, nhiều nhất là khoảng 10 axit amin). Ngay cả khi các đột biến như vậy được đưa vào, các trình tự axit amin thu được là có khả năng có chức năng như VL hoặc VH của kháng thể PD-L1.

Có hai loại chuỗi nhẹ globulin miễn dịch, chúng được gọi là chuỗi Kappa (κ) và chuỗi Lambda (λ). Trong kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế, vùng ổn định của chuỗi nhẹ (CL) có thể có trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi kappa hoặc chuỗi Lambda. Tuy nhiên, mức độ phong phú tương đối của chuỗi Lambda là cao hơn ở cừu, mèo, chó và ngựa, và mức độ phong phú tương đối của chuỗi kappa là cao hơn ở chuột nhắt, chuột cống, người và lợn. Kháng thể chuột cống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 (kháng thể đơn dòng) là IgG2a được tạo ra từ chuột cống, và CL của nó có trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi kappa.

Vùng ổn định của chuỗi nặng (CH) của kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế có thể có trình tự axit amin của vùng ổn định của IgG2a chuột cống. Chuỗi nặng globulin miễn dịch được xếp vào chuỗi γ , chuỗi μ , chuỗi α , chuỗi δ và chuỗi ϵ tùy theo khác biệt trong vùng ổn định. Theo loại chuỗi nặng có mặt, có năm lớp (isotyp) globulin miễn

dịch; đó là IgG, IgM, IgA, IgD và IgE.

Globulin miễn dịch G (IgG) chiếm 70-75% globulin miễn dịch của người và là kháng thể monome được tìm thấy nhiều nhất trong huyết tương. IgG có cấu trúc bốn chuỗi gồm hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng. IgG1, IgG2 và IgG4 người có trọng lượng phân tử khoảng 146.000, trong khi IgG3 người có vùng bản lề dài để nối vùng Fab và vùng Fc và có trọng lượng phân tử lớn hơn là 170.000. IgG1 người chiếm khoảng 65%, IgG2 người khoảng 25%, IgG3 người khoảng 7%, và IgG4 người khoảng 3% IgG người. Chúng được phân bố đồng đều bên trong và bên ngoài mạch máu. Do có ái lực mạnh với các thụ thể Fc và các yếu tố bổ thể trên bề mặt của tế bào tác động, IgG1 người cảm ứng khả năng gây độc tế bào của tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) và còn hoạt hóa các bổ thể để cảm ứng khả năng gây độc tế bào của tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC). IgG2 người và IgG4 người có các hoạt tính ADCC và CDC thấp do ái lực của chúng với các thụ thể Fc và các yếu tố bổ thể là thấp.

Globulin miễn dịch M (IgM), chiếm khoảng 10% globulin miễn dịch của người, là kháng thể pentamer gồm năm cấu trúc bốn chuỗi cơ sở nối với nhau. Nó có trọng lượng phân tử 970.000. Thường chỉ xuất hiện trong máu, IgM được sản xuất để chống lại các vi sinh vật gây nhiễm và đảm nhiệm tính miễn dịch giai đoạn sớm.

Globulin miễn dịch A (IgA) chiếm 10-15% globulin miễn dịch của người. Nó có trọng lượng phân tử 160.000. IgA tiết là kháng thể dimer gồm hai phân tử IgA nối với nhau. IgA1 được tìm thấy trong huyết thanh, chất nhầy mũi, nước bọt và sữa mẹ. Trong dịch ruột, IgA2 được tìm thấy rất nhiều.

Globulin miễn dịch D (IgD) là kháng thể monome chiếm không quá 1% globulin miễn dịch của người. IgD được tìm thấy trên bề mặt của tế bào B và tham gia cảm ứng quá trình sản xuất kháng thể.

Globulin miễn dịch E (IgE) là kháng thể monome xuất hiện với lượng cực nhỏ, chỉ chiếm 0,001% globulin miễn dịch của người hoặc nhỏ hơn. Globulin miễn dịch E được coi là tham gia vào đáp ứng miễn dịch với các ký sinh trùng nhưng ở các nước phát triển nơi ít gặp ký sinh trùng, IgE chủ yếu liên quan đến bệnh hen phế quản và bệnh dị ứng ngoài các bệnh khác.

Liên quan đến chuột cống, các trình tự của IgG1, IgG2a, IgG2b và IgG2c đã

được nhận dạng là chuỗi nặng của IgG. Kháng thể chuột chống PD-L1 của bò 6C11-3A11 có trình tự axit amin của CH của IgG2a.

Trong kháng thể theo sáng chế, tốt hơn nữa nếu CL có trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi kappa và nếu CH có trình tự axit amin của vùng ổn định của IgG2a.

Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của VL của kháng thể chuột chống PD-L1 của bò 6C11-3A11 được nhận dạng bởi các tác giả sáng chế lần lượt được thể hiện trong các SEQ ID NO: 6 và 14.

Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của VH của kháng thể chuột chống PD-L1 của bò 6C11-3A11 được nhận dạng bởi các tác giả sáng chế lần lượt được thể hiện trong các SEQ ID NO: 7 và 15.

Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của CL (Chuỗi kappa) của kháng thể chuột chống PD-L1 của bò 6C11-3A11 được nhận dạng bởi các tác giả sáng chế lần lượt được thể hiện trong các SEQ ID NO: 8 và 16. Các trình tự này là giống hệt các trình tự được đăng ký tại Ngân hàng gen (cơ sở dữ liệu trình tự nucleotit do Trung tâm Quốc gia về Thông tin Công nghệ sinh học (NCBI) cung cấp với số đăng ký #XM_008775358.2, #BC062802.1, #BC088255.1, #L22653.1, #L22655.1 và #M14434.1.

Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của CH (IgG2a) của kháng thể chuột chống PD-L1 của bò 6C11-3A11 được nhận dạng bởi các tác giả sáng chế lần lượt được thể hiện trong các SEQ ID NO: 9 và 17. Các trình tự này là giống hệt các trình tự được đăng ký tại Ngân hàng gen với số lưu giữ #BC088240.1, #BC091257.1, #BC091272.1, #BC088423.1, #L22652.1 và #L22654.1.

Các trình tự axit amin và trình tự nucleotit của các CL và CH đối với các kháng thể không phải các kháng thể trên đây có thể được thu từ các cơ sở dữ liệu đã biết để sử dụng trong sáng chế.

Về trình tự axit amin và trình tự nucleotit của chuỗi kappa của Ig chuột chống, trình tự được đăng ký tại Ngân hàng gen với số lưu giữ #V01241.1 được thể hiện trong các SEQ ID NO: 10 và 18.

Về trình tự axit amin và trình tự nucleotit của chuỗi kappa của Ig chuột cống, trình tự được đăng ký tại Ngân hàng gen với số lưu giữ #X16129.1 được thể hiện trong các SEQ ID NO: 11 và 19.

Về trình tự axit amin và trình tự nucleotit của chuỗi kappa của Ig chuột cống, trình tự được đăng ký tại Ngân hàng gen với số lưu giữ #DQ402471.1 được thể hiện trong các SEQ ID NO: 12 và 20.

Về CH của IgG2a chuột cống, trình tự được đăng ký tại Ngân hàng gen với số lưu giữ #DQ402472.1 được thể hiện trong các SEQ ID NO: 13 và 21.

Kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế có thể là kháng thể kháng PD-L1 trong đó CL có trình tự axit amin nêu trong bất kỳ SEQ ID NO: 8 và 10 đến 12 và CH có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 9 hoặc 13.

Các trình tự axit amin như nêu trong các SEQ ID NO: 8 đến 13 có thể mất, thay thế hoặc bổ sung một hoặc vài axit amin (ví dụ, lên đến năm axit amin, nhiều nhất là khoảng 10 axit amin). Ngay cả khi các đột biến như vậy được đưa vào, các trình tự axit amin thu được là có khả năng có chức năng như CL hoặc CH của kháng thể PD-L1.

Các hàng trình tự axit amin được sắp của CL và CH của kháng thể chuột cống kháng PD-L1 lần lượt được thể hiện trên Fig. 8 và Fig. 9. Các đột biến được mô tả trên đây như mất, thay thế hoặc bổ sung axit amin có thể xảy ra thích hợp ở các vị trí đột biến như được thể hiện trên các Fig. 8 và 9 hoặc hoặc gần chúng.

Kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế có thể là kháng thể dạng khảm. VL và VH của kháng thể có thể được tạo ra thích hợp từ chuột cống. Ví dụ, VL có thể là VL của kháng thể chuột cống kháng PD-L1 (ví dụ, 6C11-3A11); VH có thể là VH của kháng thể chuột cống kháng PD-L1; và CL và CH có thể được tạo ra từ động vật không phải chuột cống. Ví dụ, khi kháng thể chuột cống được tạo dạng khảm bằng cách sử dụng các vùng ổn định của kháng thể chuột nhất, kháng thể dạng khảm thu được sẽ hữu ích cho việc thử nghiệm và chẩn đoán do nhiều kháng thể thứ cấp đối với kháng thể chuột nhất là có bán trên thị trường. Các trình tự axit amin và trình tự nucleotit của các CL và CH của các kháng thể của các động vật không phải chuột cống có thể được thu từ các cơ sở dữ liệu đã biết để sử dụng trong sáng chế.

Các trình tự axit amin và trình tự nucleotit của Các CL và CH đối với người, chuột nhất, bò, chó, cừu, lợn và trâu được tóm tắt trong bảng dưới đây.

Bảng

Loài	Vùng Ig	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	GenBank Accession No.	Cơ sở dữ liệu IMGT	Tham khảo
Human (Scientific Name: <i>Homo sapiens</i>)	Human Ig heavy chain constant region (CH1~CH3)	IgG4 variant 1 GAGTCCAAATATGGTCCCGCATGCCCATCATGCCCA GCACCTGAGTTCTCGTGGGGGACCATCATGTTCTCTGT TTCCCCCCAAACCCAAAGGACACTGTCTGATCTCCG CGGACCCCTGAGGTCAAGTGGGTGGTGGTGGACGTG AGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTAC GTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCAGCGTACCGTGTG GTACGCGTCTCTACCGTCTCGTGCACGAGCACTGGTG AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAAACAAA GGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGGCCACAGGTGTACACC CTGCCCCCATCCGAGGAGGAGATGACCAAGAACCCAG GTACGCGTGAACCTGGTCAAAGGCTTCTACCCC AGCGACATCGCGGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACCACTACAGACCCAGCCCTCCCGTGTGT GACTCCGACGGCTCTCTTCTTCTCTACAGCAGGCTA ACCGTGGACAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTG TTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTGTGCACAAAC CACTACACAGAGAAGAGCGCTCTCCCTGTCTGTGGGT AAATGA (SEQ ID NO:31)	ESKYGPFPSCPAEFLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQQDLNKGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPNENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEAL HNHYTKLSLSLKG* (SEQ ID NO:30)	K01316	http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/index.php?section=LocusGenes&repertoire=genetab&species=human&group=IGHC	Elison J. et al. DNA, 1, 11-18 (1981). PMID: 6299662
	IgG4 variant 2	GAGTCCAAATATGGTCCCGCGTGCCCATCATGCCCA GCACCTGAGTTCTCGTGGGGGACCATCATGTTCTTCTGT TTCCCCCCAAACCCAAAGGACACTGTCTGATCTCTCG CGGACCCCTGAGTCAAGTGGGTGGTGGTGGACGCTG AGCCAGGAAGAACCCCGAGGTCCAGTTCACCTGGTAG GTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCAGCGTACCGTGTG GTACGCGTCTCTACCGTCTGTGCACAGGACTGGCTG AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAAACAAA GGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCGAGAGGCCACAGGTGTACACC GTGCCCCCATCCGAGGAGGAGATGACCAAGAACCCAG GTACGCGTGAACCTGGTCAAAGGCTTCTACCCC AGCGACATCGCCCTGGAGTGGGAGGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACCACTACAGACCCAGCGCTCCCGTGGTG GACTCCGACGGCTCTCTTCTTCTCTACAGCAGGCTA ACCGTGGACAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTG TTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTGTGCACAAAC CACTACACAGAGAAGAGCGCTCTCCCTGTCTGTGGGT AAATGA (SEQ ID NO:33)	ESKYGPFPSCPAEFLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVHQQDLNKGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPNENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEAL HNHYTKLSLSLKG* (SEQ ID NO:32)	AJ001563		Brusco A. et al. Eur. J. Immunogenet. 25, 349-355 (1998). PMID: 9805657
	IgG4 variant 3	GCACCTGAGTTCTCGTGGGGGACCATCATGTTCTCTGT TTCCCCCCAAACCCAAAGGACACTCATGATCTCTCG CGGACCCCTGAGGTCAAGTGGGTGGTGGTGGACGCTG AGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCACCTGGTAG GTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCAGCGTACCGTGTG GTACGCGTCTCTACCGTCTGTGCACAGGACTGGCTG AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAAACAAA GGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGGCCACAGGTGTACACC CTGCCCCCATCCGAGGAGGAGATGACCAAGAACCCAG GTACGCGTGAACCTGGTCAAAGGCTTCTACCCC AGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACCACTACAGACCCAGCGCTCCCGTGGTG GACTCCGACGGCTCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTC ACCGTGGACAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAACGCTG TTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTGTGCACAAAC CACTACACGCAGAGAGCGCTCTCCCTGTCTGTGGGT AAATGA (SEQ ID NO:35)	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNKGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPNENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ EGNVFSCVMHEALHNHYTKLSLSLKG K* (SEQ ID NO:34)	AJ001564		
Human Ig light chain constant region	Ig kappa (CK)	ACTGTGGTGCACCATCTGTCTTATCTTCCGGGCCA TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCTGTGTT GTGTGCTGTGTAATAACTTCTATCCCGAGAGAGGCC AAAGTACAGTGGAAAGTGGATAAAGCCCTCCAACTCG GGTAACTCCCGAGGAGAGTGTCAACAGAGCAGGACAGC AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCAGCCCTGACG CTGAGCAAGACGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC GCTGCGAAGTCAACCATCAGGGCTGAGGTCTGCCCG GTCAACAAAGAGTTCACAGAGGGGAGAGTGTTAG (SEQ ID NO:29)	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVL LNFPYREAKVQWVNDNALQSGNSQE SVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:28)	X96754	http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/index.php?section=LocusGenes&repertoire=genetab&species=human&group=IGKC	Ng L

Loài	Vùng Ig	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	GenBank Accession No.	Cơ sở dữ liệu IMGT	Tham khảo	
Mouse (Scientific Name: Mus musculus)	Mouse Ig heavy chain constant region (CH1 ^h CH3)	IgG1 variant 1	GCCAAACGACACGCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCTGGATCTGCTGCCAAACTAAGTCACATGGTGAACCTCTGATGCTGCTCAAGGGCTATTCCCTGAGCCAGCTGACAGTGACCTGGAACTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGGACACCTTCCAGCTGCTCCTGGAGTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGAAGTCTCCCTCCAGCCTCGGCCGACGCCAGCCGTCACTGCAACGTTGCCGCCCGGCCGAGCAGCAACAGGTGGACAAAGAAATTTGGCCAGGGGATTGTGGTTGTAAAGCCTTGCATATGACAGTCCAGAGATCATCTGTCTCATCTTCCGCCCAAGGCCAAGGATGTGCTCAACCTACTCTGACTCCTAAGGTCAAGTGTGTTGGTGAACATCAGCAAGGATGATCCCGAGGTCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGTGGAGTGCACACAGCTCAGACGCAACCCCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACTTTCCGCTCAGTCAAGTGAAGTTCCCATCTGACACGAGCACTGGCTCAATGGCAAGGATTCAAAATGCAGGGTCAACAGTGGAGCTTTCCCTGCCCCATCGAGAAACCATCTCCAAACCAAGGAGACCGAAGGCTCCACAGGTGTACACCACTTCCACCTCCCAAGGAGCAGATGGCCAAAGGATAAAGTCACTGACCTGCATGATAAACAGACTTCTCCCTGGAAGCACTTACTGTGGAGTGGCAGTGGAAATGGGAGCCAGCGGAGAACTACAAGAACACTCAGGCCATCATGAACAGCAATGGCTCTTACTTCGCTTCAAGAAAGCTCAATGTGGAGAGAGCCTCTCCCACTCTCCTGGTAAATGA (SEQ ID NO: 45)	AKTTPPSVYPLAPGSAAGTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPVAVLESOLYTLSSSYTPSPSRPETVTCNVHPASSTKVDKKVPRDGGKPKICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTGPREEQFNSTFRVSSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAIEKTSKTKGRPKAPQVYITPPPKQMAKDKVSLTOMITDFFPEDITVEWQWNGGPAENYKNTQPMNNTGYSYFVYSKLVNQSKEAGNTFTCSVLHLEGLHNHHTKLSLHSPGK (SEQ ID NO: 44)	J00453 AH005309 V00793 D78344	http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/index.php?section=LocusGenes&repertoire=genetab&species=Mus_musculus&group=GHC	Horio T. et al., Cell, 18, 559-568 (1979). PMID: 115593 Akahori Y. and Kurosawa Y., Genomics, 41, 100-104 (1997). PMID: 9126488
		IgG1 variant 2	GCCAAACGACACGCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCTGGATCTGCTGCCAAACTAAGTCACATGGTGAACCTCTGATGCTGCTCAAGGGCTATTCCCTGAGCCAGCTGACAGTGACCTGGAACTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGGACACCTTCCAGCTGCTCCTGGAGTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGAAGTCTCCCTCCAGCCTCGGCCGACGCCAGCCGTCACTGCAACGTTGCCGCCCGGCCGAGCAGCAACAGGTGGACAAAGAAATTTGGCCAGGGGATTGTGGTTGTAAAGCCTTGCATATGACAGTCCAGAGATCATCTGTCTCATCTTCCGCCCAAGGCCAAGGATGTGCTCAACCTACTCTGACTCCTAAGGTCAAGTGTGTTGGTGAACATCAGCAAGGATGATCCCGAGGTCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGTGGAGTGCACACAGCTCAGACGCAACCCCGGGAGGAGCAGATGAACAGCACTTTCCGTTCAAGTGAAGTTCCCATGATGCACCAAGGAGTGGTCAATGGCAAGGATTCAAAATGCAGGGTCAACAGTGGAGCTTTCCCTGCCCCATCGAGAAACCATCTCCAAACCAAGGAGACCGAAGGCTCCACAGGTGTACACCACTTCCACCTCCCAAGGAGCAGATGGCCAAAGGATAAAGTCACTGACCTGCATGATAAACAACTTCTCCCTGAAGACATTACTGTGGAGTGGCAGTGGAAATGGGAGCCAGCGGAGAACTACAAGAACACTCAGGCCATCATGAACAGCAATGGCTCTTACTTCGCTTCAAGAAAGCTCAATGTGGAGAGAGCACTGGAGGAGGAAATCTTTCACCTGCTGTGTGTACATGAGGGGCTGCACCAACCACTACTGAGAAGAGCCTCTCCCACTCTCCTGGTAAATGA (SEQ ID NO: 47)	AKTTPPSVYPLAPGSAAGTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPVAVLESOLYTLSSSYTPSPSRPETVTCNVHPASSTKVDKKVPRDGGKPKICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTGPREEQFNSTFRVSSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAIEKTSKTKGRPKAPQVYITPPPKQMAKDKVSLTOMITDFFPEDITVEWQWNGGPAENYKNTQPMNNTGYSYFVYSKLVNQSKEAGNTFTCSVLHLEGLHNHHTKLSLHSPGK (SEQ ID NO: 46)	L35252		Horio T. et al., Cell, 18, 559-568 (1979). PMID: 115593
		IgG2a variant 1	GCCAAACGACACGCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCTGGATCTGCTGCCAAACTAAGTCACATGGTGAACCTCTGATGCTGCTCAAGGGTATTTCCCTGAGCCAGCTGACCTTGAACCTGGAACCTCTGATCCCTGTCAAGCTGGTGTGGACACCTTCCAGCTGCTCCTGGAGTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGAAGTCTCCCTCCAGCCTCGGCCGACGCCAGCCGTCACTGCAACGTTGCCGCCCGGCCGAGCAGCAACAGGTGGACAAAGAAATTTGAAGGCTCCACAGGTGTACACGATTCCACCTCCCAAGGAGCAGATGGCCAAAGGATAAAGTCACTGACCTGCATGATAAACAACTTCTCCCTGAAGACATTACTGTGGAGTGGCAGTGGAAATGGGAGCCAGCGGAGAACTACAAGAACACTCAGGCCATCATGAACAGCAATGGCTCTTACTTCGCTTCAAGAAAGCTCAATGTGGAGAGAGCACTGGAGGAGGAAATCTTTCACCTGCTGTGTGTACATGAGGGGCTGCACCAACCACTACTGAGAAGAGCCTCTCCCACTCTCCTGGTAAATGA (SEQ ID NO: 49)	AKTTPSVYPLAPVCGDTHGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLWNSSGSLSSGVHTFPVAVLESOLYTLSSSYTVTSTWPSQSIQCNVAHPASSTKVDKKIEPRGTPKPKPPCKOAPNLLGGPVSFIFPPKIKDVLMSLSPVITCVVVDSEDDPDVQISVWFVNNVEVHTAQCTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHDWMSKFKQKVNKKLSPRIERTSKPKGSVRAPQVYITPPPEEMTKKQVTLTOMVTFDMPEDIYEVWTNNGKTLN YKNTPEVLSDGSYFMYSKLRVEKNWNVERNSYSCVVHLEGLHNHHTTKSFRT PGK (SEQ ID NO: 48)	J00470 AH005309 V00825 V00766 D78344		Yamawaki-Kataoka Y. et al., Nucleic Acids Res., 9, 1365-1381 (1981). PMID: 6282729 Olio R. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 76, 2442-2446 (1981). PMID: 6787604 Sikorav J.L. et al., Nucleic Acids Res., 8, 3143-3155 (1980). PMID: 6777755 Akahori Y. and Kurosawa Y., Genomics, 41, 100-104 (1997). PMID: 9126488

IgG2a variant 2	GCCAAAAACAAGCCCATCGGTCTATCCACTGGCC CCTGTGTGGAGATACAACCTGGCTCCTGGTGACTC TAGGTGTGCTGGTCAAGGGTATTTCCTGTGAGCGAGT GACCTTGACCTGGAACTCTGGATCCCTGTCCAGCTGGT GTGGACACCTTCCCAAGCTGTCTGCACTGTGACCTGT ACACCTCAGCAGCTCAGTCACTGTAACTCGAGCAC CTGGCCCAAGCAGCTCCATCACTGCAATGTGGCCCA CCGGGCAAGCAGCACCAAGGTGGACAAAGAAATTGA GCCAGAGGGGCCCAATCAAGCCCTGTCTCCATG CAAAATGCCAGCACTAACTCCTGTGGTGGACATCC GTCTTCATCTGCTCCCAAGATCAAGGATGATCTCA TGATCTCCCTGAGTCCCATGGTCAATGTGTGGTGGT GGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAGATCAG CTGGTTCGTGAACAAGCTGGAACTACTCACAGCTCAG ACACAAACCCATAGAGAGGATTACAAAGTACTCTCC GGTGGTCACTGCCCTCCCATCCAGCACAGGAAGT GGATGAGTGGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTCAACA ACAAAGCCCTTCCAGCGCCCATCGAGAGAACCTCT CAAAACCCAAAGGTGAGTGAAGAGCTCCAGAGGTATA TGCTTTCCTCCAGCAGAAAGAGATGACTAAGAAA CAGGTCACTCTGACCTGCTGCTGACAGCTTCATGC CTGAAGACATTTACGTGGAGTGGACCAACAAGGGA AAACAGAGCTAACTACAAGAACTGACCAAGTCTCT GGACTCTGATGTTTCTTACTGATGTACAGCAAGCTG AGAGTGGAAAGAGAGCTGGTGGAAAGAAATAGC TACTCTCTTCAAGTGTCCAGAGGCTGTGCAACATC ACCACAGCTAAGAGCTTCTCCCGGATCCGGGTA AATGA (SEQ ID NO: 51)	AKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGC LVKGYFPEPVTLTWSGSLSSGVHTFP AVLQSDLYTLSSSVYTVTSWTFSGSIT CNVAHPASSTTKVDKLEPSGPISTINP CKCPAPNLLGGPSVFIFPPKKDVLMSL SPMVTCVVVDSEDDPDVQISWVFN VEVLTAGTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHGDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERT ISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQ VTLTCMVTDMPEDYVETWNNKGTTEL NYKNTPEVLDSGSYFMYSKLREKKN WVERNSYSCSVVHEGLHNHHTKSFSR TPGK (SEQ ID NO: 50)	X16997	
IgG2b variant 1	GCCAAAAACAAGCCCATCAGTCTATCCAATGGCC CTGGGTGTGGAGATACAACCTGGTCTCCTGACTC GGGATGCTGTGCAAGGGTACTTCCCTGAGCGAGT GACTGTGACTTGGAACTGTGATCCCTGTCCAGAGT GTGCACACCTTCCCAAGCTCTCCTGAGTGTGAGCTCT ACACTATGAGCAGCTCAGTCACTGTCCCTCCAGCAC TTGGCCCAAGTCAAGCCGTCACTGCAAGCTGTCTCAC CCAGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAAGAAATTGA CCCAAGCGGGCCCATTTCAACAATCAACCCCTGTCTCT CATGCAAGAGGTGTCAACAATGCCAGCTGTCTAACCT CGAGGTGTGACACCTCCTGCTTCTCTCCCTCCAAAT ATCAAGAGTGTCTCATGATCTCCTGACACCCAAAG TCACGTGTGTGGTGGTGTGAGCGAGGATGAC CAGACGTCCAGATCAGCTGGTTTGTGAACAAGCTGGA AGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAGACAGGAT TACAAACAGTACTATCCGGGTGGTCAAGACCCCTCCCA TCCAGCAGCAGGACTGGATGAGTGGCAAGGAGTTCA AATGCAAGGTGAACAACAAAGACCTGCTCATCACCCAT CGAGAGACCACTGCAAAATTAAGGCTGTGCTCAGA GCTCCACAAGTATACATCTTGGCCCAAGCAGCAGG AGTTGTCCAGGAAGATGCTCAGTCTCACTTGCCTGGT CGTGGGCTTCAACCTGGAGACATCAGTGTGAGTG GACCCAGCAATGGGCATACAGAGGAGAACTACAAGGA CAACCGACCAAGTCTGAGCTGTGACGGTTCTTACTTC ATATATAGCAAGCTCAATATGAAGAAAGAGAGTGG AGAAACAGATTCCTTCTCATGCAAGCTGAGACAGGA GGGTCTGAAAAATTACTACCTGAAGAGACCATCTCC CGGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 53)	AKTTPSVYPLAPGCGDITGSSVTLGC LVKGYFPEPVTLTWSGSLSSSVHTFP ALLQSLYTMSSSVYTVPSWTFSGSIT CSVAHPASSTTVDDKLEPSGPISTINP PPCKECHKCPAPNLLGGPSVFIFPPNK DVLMSLTPKVTCTVVVDSEDDPDVQI SWFVNNVEVHTAGTQTHREDYNSTIRV VSTLPIQHODWMSGKEFKCKVNNKDL SPIERTISKIKGLVRAPQVYVLPPEAQL SRKDVSLTCLVVGFMFGDSVEWTSNG HTEENYKDTAPVLDSGSYFYKLNLM KTSKWEKTSFSCNVRHEGLKNYLLK TISRSPGK (SEQ ID NO: 52)	J00481 AH005309 V00801 D78344	
IgG2b variant 2	GCCAAAAACAAGCCCATCAGTCTATCCAATGGCC CTGGGTGTGGAGATACAACCTGGTCTCCTGACTC TGAGTGTGCTGCAAGGGTACTTCCCTGAGCGAGT GACTGTGACTTGGAACTGTGATCCCTGTCCAGAGT GTGCACACCTTCCCAAGCTCTCCTGAGTGTGAGCTCT ACACTATGAGCAGCTCAGTCACTGTCCCTCCAGCAC CTGGCCCAAGTCAAGCCGTCACTGCAAGCTGTCTCAC CCAGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAAGAAATTGA GCCAGCGGGCCCATTTCAACAATCAACCCCTGTCTCT CCATGCAAGAGGTGTCAACAATGCCAGCTGTCTAACCT TCGAGGTGTGACACCTCCTGCTTCTCTCCCTCCAA TATCAAGAGTGTCTCATGATCTCCTGACACCCAAAG GTCACTGTGTGGTGGTGTGAGCGAGGATGAC CCAGACGTCCAGATCAGCTGGTTTGTGAACAAGCTGG AAGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAGAGAGG ATTACAAACAGTACTATCCGGGTGGTCAAGACCCCTCC CATCCAGCACCAAGGACTGGATGAGTGGCAAGGAGTT CAAAATGCAAGGTGAACAACAAAGAGCTCCCATCACCC ATCGAGAGAACCATGCAAAATTAAGGGCTAGTCA GAGCTCCACAAGTATACACTTTCGCCGACCCAGCAGA GCAGTGTCCAGGAAGATGTCACTGTCACTTGCCTGG GTCTGGGCTTCAACCTGGAGACATCAGTGTGAGAT GGACCAAGCAATGGGCATACAGAGGAGAACTACAAGG ACACCGCACCAAGTCTTGAAGTGTGACGGTTCTTACTT CATATATAGCAAGCTCAATATGAAGAAAGAGAGTGG GAGAAACAGATTCCTTCTCATGCAAGCTGAGACAGG AGGGTCTGAAAAATTACTACCTGAAGAGACCATCTCT CCGGTCTCCGGGTAATGA (SEQ ID NO: 55)	AKTTPSVYPLAPGCGDITGSSVTS CLVKGYPPEPVTVTWSGSLSSSVHTFP PALLQSLYTMSSSVYTVPSWTFSGSIT TCSVAHPASSTTVDDKLEPSGPISTINP OPCKECHKCPAPNLLGGPSVFIFPPNI KDVLMISLTPKVTCTVVVDSEDDPDVQ ISWFVNNVEVHTAGTQTHREDYNSTIRV VSTLPIQHODWMSGKEFKCKVNNKDL SPIERTISKIKGLVRAPQVYVLPPEAQL SRKDVSLTCLVVGFMFGDSVEWTSNG HTEENYKDTAPVLDSGSYFYKLNLM KTSKWEKTSFSCNVRHEGLKNYLLK TISRSPGK (SEQ ID NO: 54)	V00763	

Morgado M.G. et al.,
EMBO J., 8, 3245-
3251 (1989). PMID:
2510986

Yamawaki-Kataoka Y.
et al., Nature, 283,
786-789 (1980).
PMID: 6766534

Ollio R. and Rougeon
F., Nature, 296, 761-
763 (1982). PMID:
6803173

Akahori Y. and
Kurosawa Y., 100-
Genomics., 41, 100-
104 (1997). PMID:
9126488

Tucker P.W. et al.,
Science, 206, 1303-
1306 (1979). PMID:
117549

IgG2c variant 1	GCCAAAAACAAGCCCATCGGTGTATCCACTGGCC CCTGTGTGTGGAGGTACAACCTGGCTCCTCGGTGACTC TAGGATGCCTGGTCAAGGGTATTTCCTCGAGCCAGT GACCTTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGTGGT GTGCACACCTTCCAGCTCTCCTGCACTGTGGCTCT ACACCCCTCAGCAGCTCAGTGAAGCTCGAAGCAGC CTGGCCGACGACGACATCACTGCAATGTGGCCGA CCCGGCAACGACGACCAAAAGTGGAACAAGAAATTGA GCCACAGTGGCCATAAACAAGAACCCCTGTCTCC ACTCAAGAGTGTCCCCCATCGCAGCTCCAGACCT CTTGGGTGGACCTCCGCTCTCATCTTCCCTCCAAAG ATCAAGGATGTACTCATGTCTCCTGAGCCCATGG TCACATGTGTGTGTGGTGTGTGAGCAGAGGATGACC CAGAGCTCCAGATCAGCTGGTTTGTGAACAACCTGGA AGTACACACAGCTCAGACAGAAACCCATAGAGAGGAT TACAACTAGTCTCCGGGTGGTCACTGCGCCCTCCCA TCGAGCACCCAGGACTGGATGAGTGGAAGGAGTTCA AATGCAAGGTCAACACAGAGCCCTCCATCCCCCAT CGAGAAAAACATCTCAAAACCCAGAGGGCCAGTAAG AGCTCCACAGGTATATGTCTTGCCTCCACAGCAGAA GAGATGACTTAAGAAAGAGTTCAGCTGACCTGGATGA TCACAGCTCTTACCTGCGCAAAATTGCTGTGGACTG GACACGCAATGGGGTACAGAGCAAACTACAAGAA CACCGCAACAGTCTGGACTCTGATGGTTCTTACTTC ATGTACAGCAAGCTCAGAGTACAAAAGCACTTGGG AAAAGGAAAGTCTTTTGGCTGCTCAGTGTCCACGA GGTGTGCACAAATCACCTTACGACTAAGACCATCTCC CGGTCTCTGGGTAATGA (SEQ ID NO: 57)	AKTTAPSVYPLAPVCGGTTGSSVTLGC LVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP ALLQSLYTLSSSVTVTSNTWPSQTIT CNVAHPASSTKVDDKIEPRVITQNPQP PLKECPPCAAPDLLGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPMVTGVVVDVSEDDPDVQIS WFVNNVEVHTAQGTQTHREDYNSLTRV VSALPIQHODWMSQKEFKCKVNNRALP SPEIKTSKPRGPVRAPQVYVLPPEAE MTKKEFSLTOMITGFLPAEIAVDWTSNG RTEQNYKNTATVLDSDGSYFMYSKLRV QKSTWERGSLFACSVVHEVLHNLTK TISRSLGK (SEQ ID NO: 56)	J00479
IgG2c variant 2	GCCAAAAACAAGCCCATCGGTGTATCCACTGGCC CCTGTGTGTGGAGGTACAACCTGGCTCCTCGGTGACTC TAGGATGCCTGGTCAAGGGTATTTCCTCGAGCCAGT GACCTTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGTGGT GTGCACACCTTCCAGCTCTCCTGCACTGTGGCTCT ACACCCCTCAGCAGCTCAGTGAAGCTCGAAGCAGC CTGGCCGACGACGACATCACTGCAATGTGGCCGA CCCGGCAAGCAGCAGCAAAAGTGGAACAAGAAATTGA ATCCAGAAAGGCCATACCAACCAACTCCTGTCTCCA TGCAAGAGTGTTCATATTCCAGCTCTGACCTCT TGGGTGGACCATCGCTCTCATCTTCCCTCCAAAGAT CAAGGATGTACTCATGTCTCCTGAGCCCATAGTC ACATGTGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCA GATGTCCAAGTACAGTGGTTTGTGAACAACCTGGAG TAGACACAGCTCAGACAGAAACCCATAGAGAGATTA CAACAGTATCTCCGGGTGGTCACTGCGCCCTCCCATC CAGCACGAGCTGGATGAGTGGAAGGAGTTCAAA TGCAAGGTCAACAACAGAGCCCTCCATCCCCCATC GAGAAACCATCTCAAAACCCAGAGGCCAGTAAGA GCTCCACAGGTATATGTCTTGCCTCCACGAGAGAG AGATGACTAAGAAAGAGTTCAAGTCTGACCTGATGAT CAGAGACTTCTTACCTGCGCAAAATTGCTGTGAGCTG ACACAGATGGGCATAAAGAGCTGAACTACAAGAAC CCGACCAAGTCTCGACACTGATGGTTCTTACTTCAT GTACAGCAAGCTCAGAGTGCAAAAGGAGCTTGGGA AAAAGGAAAGTCTTTTGGCTGCTCAGTGGTCCACGAG GGTGTGCACAAATCACCATACGACTAAGACCATCTCC GGTCTCTGGTAAATGA (SEQ ID NO: 59)	AKTTAPSVYPLAPVCGGTTGSSVTLGC LVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP ALLQSLYTLSSSVTVTSNTWPSQTIT CNVAHPASSTKVDDKIESRRPPIPNSCP PCKECSIFPAPDLLGGPSVFIFPPKIKDV LMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWF VNNVEVHTAQGTQTHREDYNSLTRVVS ALPIQHODWMSQKEFKCKVNNRALPSP IEKTSKPRGPVRAPQVYVLPPEAE KKEFSLTOMITGFLPAEIAVDWTSNGHK ELNYKNTAPVLDTGSYFMYSKLRVQK STWEKGSFLACSVVHEGLHNLTK TISRSLGK (SEQ ID NO: 58)	X16998
IgG2c variant 3	GCCAAAAACAAGCCCATCGGTGTATCCACTGGCC CCTGTGTGTGGAGGTACAACCTGGCTCCTCGGTGACTC TAGGATGCCTGGTCAAGGGTATTTCCTCGAGCCAGT GACCTTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGTGGT GTGCACACCTTCCAGCTCTCCTGCACTGTGGCTCT ACACCCCTCAGCAGCTCAGTGAAGCTCGAAGCAGC CTGGCCGACGACGACCATCACTGCAATGTGGCCGA CCCGGCAAGCAGCAGCAAAAGTGGAACAAGAAATTGA GCCCAGAGTGGCCATAACACAGAACCCCTGTCTCC ACTCAAGAGTGTCCCCATGGGACCTCCAGACCT CTTGGGTGGACCATCCGCTCTCATCTTCCCTCCAAAG ATCAAGGATGTACTCATGTCTCCTGAGCCCATGG TCACATGTGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACC CAGAGCTCCAGATCAGCTGGTTTGTGAACAACCTGGA AGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAGAGAGGAT TACAACAGTACTCTCGGGTGGTCACTGACCTCCCGA TCGAGCACCCAGGACTGGATGAGTGGAAGGAGTTCA AATGCAAGGTCAACAAGAGAGCCCTCCATCCCCCAT CGAGAAAAACATCTCAAAACCCAGAGGGCCAGTAAG AGCTCCACAGGTATATGTCTTGCCTCCACGAGCAGAA GAGATGACTAAGAAAGAGTTCAAGTCTGACCTGATGA TCACAGGCTTCTTACCTGCGCAAAATTGCTGTGGACTG GACCGAGCAATGGGGTACAGAGCAAACTACAAGAA CACCGCAACAGTCTGAGCTCTGATGGTTCTTACTTC ATGTACAGCAAGCTCAGAGTACAAAAGGAGCTTGGG AAAAGGAAAGTCTTTTGGCTGCTCAGTGGTCCACGA GGGTCTGCACAAATCACCTTACGACTAAGACCATCTCC CGGTCTCTGGTAAATGA (SEQ ID NO: 61)	AKTTAPSVYPLAPVCGGTTGSSVTLGC LVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP ALLQSLYTLSSSVTVTSNTWPSQTIT CNVAHPASSTKVDDKIEPRVITQNPQP PLKECPPCAAPDLLGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPMVTGVVVDVSEDDPDVQIS WFVNNVEVHTAQGTQTHREDYNSLTRV VSALPIQHODWMSQKEFKCKVNNRALP SPEIKTSKPRGPVRAPQVYVLPPEAE MTKKEFSLTOMITGFLPAEIAVDWTSNG RTEQNYKNTATVLDSDGSYFMYSKLRV QKSTWERGSLFACSVVHEGLHNLTK TISRSLGK (SEQ ID NO: 60)	Y10606

Ollio R. and Rougeon
F., Cell, 32, 515-523
(1983). PMID:
6297797

Morgado M.G. et al.,
EMBO J., 8, 3245-
3251 (1989). PMID:
2510996

Martin R.M. et al.,
Immunogenetics, 46,
167-168 (1997).
PMID: 9162106

IgG3	GCTACAAACACAGCCCATCTGTCTATCCCTTGGTCC CTGGGTGCACTGACACATCTGTGATCTCGGTGACACT GGGATGCTGTGTGAAAGGCTACTTCCCTGAGCCGGTA ACTGTAAATGGAACTATGGAGCCCTGTCCAGCCGGT TCCGCACAGTCTCATCTGTCTGCGAGTCTGGGTCTTA TTCCCTGAGCAGCTTGGTACTGTACCTCGAGGACG TGGCCAGCAGCAGCTGTCTATCTGCAAGCTGAGCCAC CCAGCCAGCAAGAGTGTGATGACAGGAATGAG CCTAGAATAACCAAGCCAGTACCCGCCGAGCTTCT CATGCCACCTGGTAACATCTTGGGTGAGCCATCCGT CTTCATCTTCCGCCAAAGCCCAAGGATGCACTCATG ATCTCCCTAACCCCAAGGTTACGTGTGGTGGTGG ATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCATGTGAGGTG GTTTGTGGAACAAGAGAGTACACAGAGCCGTGACAC CAGCCCGGTGAAGCTGAGTACAGAGTACCTTCCGA GTGGTCACTGCCCTCCCATCCAGCCAGGAGCTGG ATGAGGGGCAAGGAGTTCAATGCAAGGTCAACAAC AAAGCCCTCCAGCCGCCCATCGAGAGAACCATCTCA AAACCCAAAGGAAGAGCCGACAGACCTCAAGTATAC ACCATACCCCACTCGTGAACAAATGTCCAGAGAGA AGGTTAGTGTGAGCTGTGGCTGGTGCACCACTTCTCTG TGAACCATCATGTGTGAGTGGGAAAGAGCGGAGA ACTGGAGGAGGATTACAAGAACACTCCACCCATCGTG GACTCAGATGGGACCTATTCTGTACAGCAAGGTCA CTGTGGATACAGACAGTGTGGTGAAGAGAAATTTT TACCTGCTCCGTGGTGCATGAGGCTCTCCATTAACCA CACACACAGAAAGCTGTCTGCTGCCGTGGTAAAT GA (SEQ ID NO: 63)	ATTTAPSVYPLVPGCSDTSGSSVTLGC LVKGYFPEPTVKWNYGALSSGVRTVS SVLQSGFYLSLTVPSSTWPSQTVI ONVAHPASKTELKRIEPRIPKSTPPGS SCPPGNILGGPSVFIFPPKPKDALMISL TPKVTCVVDVSEDDPDVHVSFVFN KEVITAWTQPREAQYNSTFRVVSALPI QHODWMRQKEFKCKVNNKALPAPIERT ISKPKRAGTQPVYTIPTPPREGMSKKK VSLTOLVTNFFSEISVEWERNGELEQD YKNTPILOSDGTFLYSLKTLVDTSWL QGEIFTCSVHEALHNHHTQKNLSRSP GK (SEQ ID NO: 62)	J00451 AH005309 X00915 D78343	Stanton L.W. and Marcu K.B., Nucleic Acids Res. 10, 5993- 6008 (1982). PMID: 6292664 Wals J.A. et al., EMBO J. 3, 2041- 2046 (1984). PMID: 6092053 Akahori Y. and Kurosawa Y., Genomics, 41, 100- 104 (1997). PMID: 9126488
Mouse Ig light chain constant region	Ig kappa (CK) GCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTCCCACT CCAAGTGAAGCAGTTAAACATCTGAGAGTGCCTGAGTGT GTGCTTCTTGAAACCACTGTACCCCAAGACATCAAT GTCAAGTGAAGATTGATGGCAGTGAACAGCAAAATG GGGTCTGAACAGTTGAGCTGATGACAGCAGCAAG ACAGCAGCTACAGCATGAGCAGCAGCCTCAAGTTGA CCAAAGGACGAGTATGAACGACATTAACAGCTATACGT TGAAGCCAGTCAAGACATCAACTGTGACCCATTGTG AAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTAG (SEQ ID NO: 37)	ADAAPTYSIFPPSSEQLTSGGASVVC LNNFYKQDINVKWIDGSRQNGVLNS WTDQDQSDSTYSMSLTLTKDEYERH NSYTCEATHKTSTSPVKSFRNREC (SEQ ID NO: 36)	V00807 V00777 V01569 V00806 X67002 X67003 X67004 X67005 X67006 X67007 X67008 X67009 X67010 X67011 X67012	http://www.imst.org/I-MGTrepertoire/index.php?section=LocusGen&s&repertoire=genetab&s&species=Mus.muscul&us&group=IGKC Hieter P.A. et al., Cell, 22, 197-207 (1980). PMID: 6775818 Max E.E. et al., J. Biol. Chem., 256, 5116-5120 (1981). PMID: 6262318 Seidman J.G. et al., Nature, 280, 370-375 (1979). PMID: 111146 Solin M.L. and Kaartinen M., Immunogenetics, 37, 401-407 (1993). PMID: 8436414
Ig lambda 1 (CL)	GGCCAGCCCAAGTCTCGGCATCAGTACCCCTGTTT CACCTTCTCTGGAAGAGCTCGAGACTAACAAGGCCAG ACTGCTGTGTACGATGACGATTATTAACCAAGGTGT GTGACAGTGGAGTGAAGGATGATGATGATGATGATG ACTCAGGATGGAAGACACCCAGCCCTCCAAACAG AGCAACAACAAGTACATGGCTAGCAGCTACCTGACCC TGACAGCAAGAGCATGGGAAGGCGATAGCAGTTACA GCTGCCAGGTCACTCATGAAGGTACACACTGTGGAGA AGAGTTTGTCCCGTGTGACTGTTCTAG (SEQ ID NO: 39)	GQPKSSPSVTLFPPSSELETKATLV CTITDFYPGVTVVDWVVGTPPTQME TTQPSKQSNKYMASSVTLTLTARAWER HSSYSCQVTHEGHTVEKSLRADCS (SEQ ID NO: 38)	J00587 AH005311 X58411 V00814	http://www.imst.org/I-MGTrepertoire/index.php?section=LocusGen&s&repertoire=genetab&s&species=Mus.muscul&us&group=IGLC Selsing E. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 4681-4685 (1982). PMID: 6812053 Weiss S. and Wu GE, EMBO J. 6, 927-937 (1987). PMID: 3109891 Bernard O. et al., Cell, 15, 1133-1144 (1978). PMID: 103630
Ig lambda 2 (CL)	GGTCAGCCCAAGTCCACTGCCAGTGTACCGTGTTC CACCTTCTCTGAGGAGCTCAAGGAAACAAGGCCAC ACTGCTGTGTCTGATTCCAACTTTCCCGAGTGGT GTGACAGTGGCTGGAAGGCAATGGTACACCTATCA CCCAAGGTGTGGACACTTCAATCCCAACAAGAGG GCAACAAGTGTGAGGCAAGCTTCTGATATTGAC ATCGGACCAAGTGGAGATCTCACAACAGTTTACCTGT CAAGTTACACATGAAGGGGACACTGTGGAGAAAGAT CTGTCTCTGCAAGATTGTCTGAA (SEQ ID NO: 41)	GQPKSTPTLTVPFPPSSEELKENKATLV CLISNFPSPSGVTVAWKANGTPTITQGV TSNPTKEGKFMASFLHLTSDQWRSH NSFTQVTHEGDTVEKSLSPAEL (SEQ ID NO: 40)	J00595 AH001968 J00592 AH001967 X58414	Selsing E. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 4681-4685 (1982). PMID: 6812053 Wu G. et al., Cell, 33, 77-83 (1983). PMID: 6432336 Weiss S. and Wu GE, EMBO J. 6, 927-937 (1987). PMID: 3109891
Ig lambda 3 (CL)	GGTCAGCCCAAGTCCACTGCCAGTGTACCGTGTTC CACCTTCTCTGAGGAGCTCAAGGAAACAAGGCCAC CACTGTGTGTCTGATTTCAAATTTTCCCAAGTGG TGTGACAGTGGCTGGAAGGAAATGGTACACCTATC ACCCAGGTGTGGACACTTCAATCCCAACAAGAG GACAACAAGTACATGGCCAGCAGCTTCTTACATTTGA CATCGGACCAAGTGGAGATCTCACAACAGTTTACCTG CCAAAGTTACACATGAAGGGGACACTGTGGAGAAAG TCTGTCTCTGCAAGATTGTCTGAA (SEQ ID NO: 43)	GQPKSTPTLTVPFPPSSEELKENKATLV CLISNFPSPSGVTVAWKANGTPTITQGV TSNPTKEGKFMASFLHLTSDQWRSH NSFTQVTHEGDTVEKSLSPAEL (SEQ ID NO: 42)	J00585 AH005311 X58415 X58411	Selsing E. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 4681-4685 (1982). PMID: 6812053 Weiss S. and Wu GE, EMBO J. 6, 927-937 (1987). PMID: 3109891

16

17

Loại	Vùng Ig	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	GenBank Accession No.	Cơ sở dữ liệu IMG	Tham khảo
Canine (Scientific Name: <i>Canis lupus familiaris</i>)	Canine Ig heavy chain constant region (CH1'CH3)	GGCTCCACCAAGGCCCTCGGTTTTCCCACTGGCC CCAGCTGCGGGTCCACTTCCGGCTCCACGGTGGCC CTGGCTGGCTGGTGCAGGCTACTTCCCGAGCCCT GTAAGTGTGCTCGAATTCCGGCTCCTTGACCAAGC GGTGTGCACACCTTCCGGTCCGTCTGCAGTCTCTCA GGGCTCTACTCCCTCAGCAGCAGGTCACAGTGGCC TCCAGCAGGTGGCCAGCAGACCTTCACTGCAAC GTGGTCCACCGGCCAGCACAAGTAGACAAG CCAGTGGCCAAAGAGTCCAGCTGCAAGTGTATATCC CCATGCCAGTCCCTGAATCACTGGGAGGGCCTTGG GTCTTCATCTTTCCCGGAAACCAAGGACATCCTC AGGATTACCCGAACCCGAGATCACCTGTGTGGTG TTAGATTGGGCGGTGAGGACCTGAGGTGCAGATC AGCTGGTTCGTGGTGGTAAGGAGGTGCACACAGCC AAGACGACGCTCGTGGAGCAGTTCACACAGCC TACCGTGTGGTCAGGCTCCTCCCACTTGAGCACCAG GACTGGCTACCCGGAAGAGTTCAGTGCAGAGTC AACCACATAGGCTCCCTGCTCCCGCATGAGAGGACT ATCTCCAAAGCCAGAGGGCAAGCCATCAGCCAGT GTGTATGCTCTGCCACCATCCCAAGAGGAGTTGTCA TCCAGTGACACGGTCACTGACCTGCTGATGAAA GACTTCTCCACCTGAGATTGATGTGGAGTGGCAG AGCAATGGACAGCCGAGGCGGAGAGCAAGTACCAC ACGACTGCCGCCAGCTGGAGGAGGAGCGGCTCTAC TTCTGTACAGCAAGCTCTGTGGACAGAGCGCCG TGGCAGCAGGAGACACCTTCAGATGTGGGCTGATG CATGAAGCTCTACAGAACCACTACACAGATCTATCC TCTCCATTCTCCGGTAAATGA (SEQ ID NO: 85)	ASTTAPSVFPLAPSGSTSGSTVALAC LVSGYFPEPVTVSWNSGLTSGVHTFP SVLQSSGLYSLSTVTPSSRPSETF TCNVVHPASNTKVDPKPKESTCKCIS PCPVPSLGGPSVFIFPKPKDILRTRT PEITCVVLDLGRDEPVGISWVFDGKEV HTAKTPREQGFNSTYRVSVLPIEHQ DWLTGKFEKRVNHGLPSPIERTISKA RQQAHPSPVYVLPSPKELSSSDTVTL TOLIKDFPPEIDVEWQSNQPEPESKY HTTAPQLDEDSYFLYKLSVDKSRWQ QGDTFTCAVMHEALQNHDTLDSHS PGK* (SEQ ID NO: 84)	AF354267	http://www.imgt.org/IMGRepertoire/index.php?section=LocusGenes&repertoire=genetab&species=dog&group=IGHC	Tang L. et al., Vet. Immunol. Immunopathol. 80 (3-4), 259-270 (2001). PMID: 11457479
	Canine Ig light chain constant region	IG lambda (CL) CAGCCCAAGGCTCCCTCTGGTCACTCTTCCCG CCCTCTCTGAGGAGCTCGGGCGCAACAAGGCCAGC CTGGTGTGCTCATCAGCGACTTCTACCCAGCGGG GTGACGGTGGGCTGGAAGGCAAGCGGAGCGCCGT CAGCCAGGGGCTGGAGACCAAGCCCTCCAAAGCA GAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAG CCTGACGCTGACAAGTGGAAATCTCAGAGAGCTT CAGCTGGCTGGTCAAGCAGGAGGGGAGCACCGTGG AGAAAGAGTGGGCCCGCAGAGTGTCTTAG (SEQ ID NO: 83)	QPKASPSVTLFPPSSEELGANKATLVC LISDFYPSGVTVAWKASGSPVTQGVET TKPSKQSNKYYAASSYLSLTPDKWKSH SSFSGLVTHEGSTVEKKVAPAECS* (SEQ ID NO: 82)	E02824	Not registered	None

19

20

21

Loài	Vùng Ig	Trình tự nucleotit	Trình tự axit amin	GenBank Accession No.	Cơ sở dữ liệu IMGT	Tham khảo
Water buffalo (Scientific Name: <i>Bubalus bubalis</i>)	Water buffalo Ig heavy chain constant region (CH1~CH3)	IgG1? GAGCGGGGTGGACACCTTCCCGGCGGTCTTGAAGTCC TCCGCGGCTTACTGCTGCAAGACAGCTGGAACGGGGC CCGCCAGCGGCCACAAAAGCGACACCTTCACTGTCAA CGTAGCCCAACCGGCCGACGACCAAGGTGGACAAAG GCTGTTGTTTCCCCGATGACAGCGAAACCGTGTGATTG CTGCCACCCCGCTGAGCTCCCGGAGGACCGCTCTGTC TTCACTTCCGACCAAAACCGAAGGACACCGTCAACAAT CTCTGGAACTCCTGAGGTCAAGTGTGTGGTGGTGGAC GTGGCGACGATGACCCCGAGGTGATTTCTCTCGAGT TCCTGGACGATGTGGAGTAAACAGACGCGAGGACGAA GCCAAGAGAGGAGCAGTTCAACAGCACCTACCGCGTG GTACGCGCGCTGCCATCCAGACCAACGACTGGAAGT GAGGAAGGAGTTCAAGTGCAGGTTCACTAAGGAGGCG CTCCGACGCCCATCGTGAGGACCATCTCCAGGACCA AAGGGCAGCGCGGAGCGCGAGGTGTACGCTCTGCG CCGACCCAGGACGAGCTGACGAAAGACGAGTGAAG ATCACTTGCATGCTGATGCTTCTTACCGAGCTACAT CGCCGTAGAGTGGGAGAAAGATGGGAGCGCTGAGTCA GAGGACAAATATGGACGACCGCGCGCGAGCTGGACA GCGATGGCTCCTACTTCTGTACAGCAGGCTCAGGGT GAACAAGAACAGCTGGCAAGAAGGAGGCGCTACAG TGTGTAGTGTGATGAGGCG (SEQ ID NO: 119)	SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSTVTAPAS ATKSQTFCTCNVAHPASSTKVDKAVVP PQRPKPCDCPPPELPGGPSVFIFPPK PKDLTISGTEPVTVVVDVGHDPDEV KFSWFDVDEVNTARTKPREQFNSTY RVVSALPIQHNDWTGKFEKCKVYNEG LPAPIVRTISRTKGQAREPQVYVLAPP ODELSKSTYSITCMVTGFYDPIAVIEW OKDQGPSEEDKYGTTPQLDSDGSYF LYSRLRVNKNKSWOEGGAYTCVVMHE (SEQ ID NO: 118)	NW_00569090 3	Not registered	None
		IgG2? GCCTCCATCAGAGCCCGGAAAGTCTACCGTCTGACTTC TTGCGCGGGGAAAGCTCCAGCTCCACGCTGACCGTG GGCTGCCTGGTCTCCAGCTACATGCCGAGCCGGTGA CCGTGACCTGGAACCTCGGTGCCGTGAAGAGCGCGCT GCACACCTTCCCGGCGCTCCTTCACTGCTCTGGGCTC TACTGTGACGACGACGGGTGACCGCGCGCGCGAGCG CCACAAAAGGACGAGCTTCACTGCAAGCTAGCCGAC CCGGCAGGACGACGAAAGTGGACACGCTGTTGGGT TCTCCAGTCACTGCTGCAAGTTTCTAAGCCTTGTGTG AGGGGACCATCTGCTTCACTCTCCGCGCAAAACCCAA AGACACCGTGATGATCAGGAAATCCGAGGTCACT GTGTGGTGGTGGAGCTGGCGCGGATACCGCGAGGT GCAGTTCTCCTGGTTCGTGGGTGATGTGGAGGTGCA ACGGGCGAGGTGCAAGCGGAGAGGAGGAGTTCACAC GCACCTACCGCTGATGACGACGAGTACCGGAGTGA CAATGACTGAGTGGAGAAAGGAGTTCAAGTGCAAG GTCAACACAAAGGCTCCCGAGCCCATCTGAGGA CCATCTCCAGGACCAAGGCGAGCGCGGAGCGCGCA GGTGTACCTCTGCGCCCGACCGAGGAGGCTCAGC AAAAGCACGGTCAGGTCACCTTGCATGGTCACTGGGT TACCCAGAGTACATCGCGGTAGAGTGGATAGAGAGC GGAGCGCTGAGTGGAGGAGTGGAGTGGAGTGGAGC GGCGCAGGTGGACAGGATGGCTCTACTTCTGTGAC AGCAGGCTCAAGGTGAACAAGAACAGGTGGCAAGAG GAGGCGCTACACGCTGTGTAGTGTGATGAGGCG (SEQ ID NO: 121)	ASITAPKYYPLTSCRGETSSSTVTLGC LVSSYMPPEVTVTWNAGALKSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSTVTAPASATKSQT FTCNVAHPASSTKVDATVGFSSDCK FPKPCVRGSPVFIFPPKPKDLTMITGNP EVTCTVVDVGRDNPEVQFSWVFGDVE VHTGRKPREQFNSTYRVVSALPIQH NDWTGKFEKCKVNNKGLPAPIVRTIS RTKGQAREPQVYVLAPPDELSKSTVS VTOMVTGFYDPIAVIEWHRDRQAESD KYRTTPQLDSDGSYFLYSRLRVNKNK WOEGGAYTCVVMHE (SEQ ID NO: 120)	NW_00576614 3		
		IgG3? GCCTCCACACAGCGCCGAAAGTCTACCGTCTGCGCAT CCAGCTCCAGCAGCGCTGAGCTCCAGCGTCCGCT GGGCTGCCTGGTCTCCAGCTACATGCCGAGCGCGGTG ACCGTGACCTGGAACCTCGGTGCCGTGAAGAACCGGG TGACACACCTTCCCGCGCTCCGCGAGTCTCCGCGGT CTACTCTGTCAGCAGCATGGTGACCATGCCACCGCA CCGCGAGGAACCGACCTTCACTGCAACGTAGCCCA CCCGCGCAGGACGACCAAGGTGGACACGGGTGTCACT GCAAGGCGATCCGGTCCCGAAGACACAGAGACACCTA TCCATCTGTAAACCCCGCAACCGAGGACCGAGAT GAAAAGACACCTGCGAGTGTCCCAATGCCGAGAACC TGTGGGAGGAGTGTCTGCTTCACTTCCACCGCAAA CCAGGACACCTCACAATCTCTGGAACCGCGAGGT CACGTGTGTGGTGTGGAGCTGGCGCGAGGTGACCC GAAGTGCACTTCTGCTGTTCTGTTGAGCTGGAGG TGACACACAGCGAGGTGAAGCCAAGAGAGGAGCAATT AACAAGACGCTAGCGGTGTTGAGCGCGCTGCGCAT CAGCAGCAGGCTGCTGCGGGAAGAGGATTCAGT GCAAGGTCAACAACAAAGCGCTCCCGCGCCCATCTG GAGGACCATCTCCAGGACCAAGGCGAGCGCGCGGAG CCACAGGTGTATGCTGCGGCCCGACCGCGGAAGAGC TCAGCAAAAGCAGGCTCAGGCTCAGCTGCCTAATCAGC GGCTTCAACCGAGAGGATGAGCTGTGAGTGGCAGA GAAATGGGCGAGCTGAGTCAAGAGCAAGTACACAC GACCCACGCTCAGGTGAGCGCTGACGCTCTACTT CTGTACAGCAGGCTCAGGCTGAACAGGAGCGAGCTGG AGGAAGGAGACCACTACAGTGTGAGTGTGATGATGAA GCTTTACGGAATCACTACAAGAGAGCGCATCTCGAG GTCTCGGGTAAATGA (SEQ ID NO: 123)	ASTTAPKYYPLASSCGDTSSSTVTLGC LVSSYMPPEVTVTWNAGALKNGVHTF PAVRQSSGLYSLSMVTMPTSTAGTQ TFTCNVAHPASSTKVDATVARTHPVP KTPEPIHPKPPTEPREDEKTPCGCP KOPEPLGGLSVFIFPPKPKDLTISGTP EVTCTVVDVGGDDPEVQFSWVVDVE VHTARMKPREQFNSTYRVVSALPIQH QDILREKFEKCKVNNKGLPAPIVRTIS TKGQAREPQVYVLAPPREELSKSTLSL TCLITGFYEEVDVWQRNGQPESEDK YHTTPQLDADGSYFLYSRLRVNRSW QEGDHYTCAMHEALRNHYKEKPISSRS PGK* (SEQ ID NO: 122)	NW_00578420 6		
Water buffalo Ig light chain constant region (CL)	Ig lambda?	CAGCCCAAGTCGCGACCGCTCAGTCACCGTGTCCGAC CCTCCACGGAGGAGCTCAGCGGCAACAAAGGCCACCGT GGTGTGTCTCATCAGCGACTTCTACCGGGTAGCATGA CGGTGGCGAGGAGGACAGCGGACGACCATCAACCG CAAGGTGGAGACACCGCGCTCCAAACAGAGGCAAC AGCAAGTACGCGCGCAGCAGTACCTGAGCGCTGACGG GCAGCGAGTGGAAATCGAAAGGCAATTACAGCTGCGA GGTACGAGGAGGGGAGCAGCGTACAAAGACAGTGT AAGCCCTCAGAGTGTCTTAG (SEQ ID NO: 117)	QPKSAPSVTLFPSTELSSANKATLVC LISDFYPGSMVTARKADGSTITRNVTG RASKGNSKYAASSYLSLTGSEWKSQ SYSOEYTHESSTVTITVKPSEOS* (SEQ ID NO: 116)	NW_00569078 6	Not registered	None

Các trình tự axit amin như nêu trong các SEQ ID NO: 8 đến 13, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120 và 122 có thể mất, thay thế hoặc bổ sung một hoặc vài axit amin (ví dụ, lên đến năm axit amin, nhiều nhất là khoảng 10 axit amin). Ngay cả khi các đột biến như vậy được đưa vào, các trình tự axit amin thu được là có khả năng có chức năng như vùng ổn định của Ig chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ.

Kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế có thể có cấu trúc bốn chuỗi bao gồm hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng.

Kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế có thể được điều chế như được mô tả dưới đây. Nói vắn tắt, gen nhân tạo được tổng hợp bao gồm trình tự chuỗi nhẹ (trình tự vùng biến đổi và trình tự vùng ổn định) và trình tự chuỗi nặng (trình tự vùng biến đổi và trình tự vùng ổn định) của kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế. Gen thu được được cài vào vector (ví dụ, plasmid), mà tiếp theo được đưa vào tế bào chủ (ví dụ, tế bào động vật có vú như tế bào CHO). Tế bào chủ này được nuôi cấy, và kháng thể nghiên cứu được thu từ môi trường nuôi cấy thu được. Trong tổng hợp gen nhân tạo, các codon của trình tự nucleotit có thể được tối ưu hóa.

Sáng chế đề xuất ADN mã hóa kháng thể kháng PD-L1 bao gồm (a) chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 có trình tự axit amin KSISKY (SEQ ID NO: 1), CDR2 có trình tự axit amin SGS và CDR3 có trình tự axit amin QQHNEYPLT (SEQ ID NO: 2) và (b) chuỗi nặng bao gồm CDR1 có trình tự axit amin GYTFTDYI (SEQ ID NO: 3), CDR2 có trình tự axit amin INPDSGGN (SEQ ID NO: 4) và CDR3 có trình tự axit amin ARGITMMVVISHWKDFD (SEQ ID NO: 5). Sáng chế cũng đề xuất ADN mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng PD-L1 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin KSISKY (SEQ ID NO: 1), CDR2 có trình tự axit amin SGS và CDR3 có trình tự axit amin QQHNEYPLT (SEQ ID NO: 2) (ADN của (a')). Ngoài ra, sáng chế đề xuất ADN mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng PD-L1 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin GYTFTDYI (SEQ ID NO: 3), CDR2 có trình tự axit amin INPDSGGN (SEQ ID NO: 4) và CDR3 có trình tự axit amin ARGITMMVVISHWKDFD (SEQ ID NO: 5) (ADN của (b')).

Đối với (a) chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 có trình tự axit amin KSISKY (SEQ ID NO: 1), CDR2 có trình tự axit amin SGS và CDR3 có trình tự axit amin QQHNEYPLT (SEQ ID NO: 2) và (b) chuỗi nặng bao gồm CDR1 có trình tự axit amin GYTFTDYI (SEQ ID NO: 3), CDR2 có trình tự axit amin INPDSGGN (SEQ ID NO: 4) và CDR3 có trình tự axit amin ARGITMMVVISHWKDFD (SEQ ID NO: 5), cần viện dẫn đến phần mô tả trên đây. ADN bao gồm ADN của (a') và ADN của (b') có thể được tổng hợp bằng máy tổng hợp thương mại. Các vị trí nhận biết bởi enzym giới hạn, trình tự KOZAK, trình tự tín hiệu bổ sung poly-A, trình tự khởi đầu, trình tự intron hoặc dạng tương tự có thể được bổ sung vào ADN này.

Sáng chế cũng đề xuất vectơ bao gồm ADN nêu trên mã hóa kháng thể kháng PD-L1.

Về vectơ, plasmit được tạo ra từ *Escherichia coli* (ví dụ, pBR322, pBR325, pUC12 hoặc pUC13); plasmit được tạo ra từ *Bacillus subtilis* (ví dụ, pUB110, pTP5 hoặc pC194), plasmit được tạo ra từ nấm men (ví dụ, pSH19 hoặc pSH15); thể thực khuẩn như thể thực khuẩn λ ; virut động vật như retrovirut hoặc virut gây bệnh đậu bò; hoặc virut gây bệnh ở côn trùng như baculovirut có thể được sử dụng. Trong các ví dụ được mô tả muộn hơn, pDC6 (patent Nhật Bản số 5704753, patent Mỹ số 9096878, patent châu Âu số 2385115, patent Hồng Kông (Trung Quốc) số HK1163739, patent Úc số 2009331326) được sử dụng.

Vectơ có thể còn bao gồm gen khởi đầu, gen tăng cường, tín hiệu cắt ghép, tín hiệu bổ sung poly-A, trình tự intron, gen đánh dấu chọn lọc, điểm khởi đầu sao chép của SV40, v.v..

Sáng chế cũng đề xuất tế bào chủ được biến nạp bằng vectơ trên đây. Có thể điều chế kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế bằng cách nuôi cấy tế bào chủ và thu kháng thể nghiên cứu từ môi trường nuôi cấy thu được. Do đó, sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều chế kháng thể, bao gồm nuôi cấy tế bào chủ được mô tả trên đây và thu kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế từ môi trường nuôi cấy. Trong phương pháp theo sáng chế để điều chế kháng thể, vectơ hợp nhất ADN bao gồm ADN mã hóa chuỗi nhẹ và ADN mã hóa chuỗi nặng có thể được chuyển nhiễm vào tế bào chủ. Theo cách khác, vectơ hợp nhất ADN mã hóa chuỗi nhẹ và vectơ hợp nhất ADN mã hóa chuỗi nặng có thể được đồng chuyển nhiễm vào tế bào chủ.

Các ví dụ về tế bào chủ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tế bào vi khuẩn (như *Escherichia bacteria*, *Bacillus bacteria* hoặc *Bacillus subtilis*), tế bào nấm (như nấm men hoặc *Aspergillus*), tế bào côn trùng (như tế bào S2 hoặc tế bào Sf), tế bào động vật (như tế bào CHO, tế bào COS, tế bào HeLa, tế bào C127, tế bào 3T3, tế bào BHK hoặc tế bào HEK 293) và tế bào thực vật. Trong số đó, tế bào CHO-DG44 (CHO-DG44(d^{dhfr}-/-)) – là tế bào khuyết dihydrofolat reductaza – được ưu tiên.

Việc đưa vectơ tái tổ hợp vào tế bào chủ có thể được thực hiện bằng các phương pháp được bộc lộ trong *Molecular Cloning 2nd Edition*, J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989 (ví dụ, phương pháp canxi phosphat, phương pháp DEAE-dextran, chuyển nhiễm, vi tiêm, chuyển nhiễm bằng liposom, biến nạp điện, tải nạp, tải

nạp qua vết cắt, phương pháp bắn gen, v.v.) hoặc bằng cách gây nhiễm.

Thể biến nạp thu được có thể được nuôi cấy trong môi trường, tiếp theo là thu kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế từ môi trường nuôi cấy. Khi kháng thể được tiết vào môi trường, môi trường này có thể được thu hồi, tiếp theo là phân lập và tinh chế kháng thể từ môi trường. Khi kháng thể được sản xuất bên trong tế bào đã biến nạp, tế bào này có thể được làm tan, tiếp theo là phân lập và tinh chế kháng thể từ dịch tan tế bào.

Các ví dụ về môi trường bao gồm, nhưng không giới hạn ở, môi trường OptiCHO, môi trường Dynamis, môi trường CD CHO, môi trường ActiCHO, môi trường FortiCHO, môi trường Ex-Cell CD CHO, môi trường BalanCD CHO, môi trường ProCHO 5 và môi trường Cellvento CHO-100.

Độ pH của môi trường thay đổi tùy theo tế bào được nuôi cấy. Nói chung, khoảng pH từ 6,8 đến 7,6 được sử dụng; độ pH thích hợp thường nằm trong khoảng từ 7,0 đến 7,4.

Khi tế bào nuôi cấy là tế bào CHO, việc nuôi cấy có thể được thực hiện bằng các phương pháp được chuyên gia trong lĩnh vực này biết rõ. Ví dụ, thường có thể thực hiện việc nuôi cấy trong môi trường pha khí có nồng độ CO₂ 0-40%, tốt hơn là 2-10%, ở 30-39°C, tốt hơn là khoảng 37°C.

Khoảng thời gian nuôi cấy thích hợp thường từ một ngày đến ba tháng, tốt hơn là từ một ngày đến ba tuần.

Phân lập và tinh chế kháng thể có thể được thực hiện bằng các phương pháp đã biết. Các phương pháp phân lập/tinh chế đã biết có thể được sử dụng theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các phương pháp bằng cách sử dụng khác biệt về độ tan (như loại muối hoặc kết tủa dung môi); các phương pháp bằng cách sử dụng khác biệt về trọng lượng phân tử (như thẩm tách, siêu lọc, lọc gel hoặc điện di trên gel SDS-polyacrylamit); các phương pháp bằng cách sử dụng khác biệt về điện tích (như sắc ký trao đổi ion); các phương pháp bằng cách sử dụng ái lực đặc hiệu (như sắc ký ái lực); các phương pháp bằng cách sử dụng khác biệt về độ kỵ nước (như sắc ký lỏng hiệu năng cao đảo pha); và các phương pháp bằng cách sử dụng khác biệt về điểm đẳng điện (như hội tụ điểm đẳng điện).

Cũng có thể điều chế kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế bằng cách nuôi cấy tế bào lai mà có thể được điều chế bằng phương pháp được bộc lộ trong tài liệu chuyên

ngành (Ikebuchi R, Konnai S, Okagawa T, Yokoyama K, Nakajima C, Suzuki Y, Murata S, Ohashi K, Immunology. 2014 Aug;142(4):551-61). Tế bào lai sản xuất kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 được bảo quản trong phòng thí nghiệm của các tác giả sáng chế (Laboratory of Infectious Diseases, Department of Disease Control, Faculty of Veterinary Medicine, Hokkaido University).

Kháng thể PD-L1 theo sáng chế có thể được sử dụng để phát hiện PD-L1. Do đó, sáng chế đề xuất chế phẩm dùng để phát hiện PD-L1, bao gồm kháng thể PD-L1 làm hoạt chất.

Việc phát hiện PD-L1 có thể được thực hiện bằng các phương pháp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, nhuộm hóa mô miễn dịch, nhuộm hóa tế bào miễn dịch, phép đo đếm tế bào theo dòng chảy, thử nghiệm chất hấp phụ miễn dịch gắn enzym (ELISA) và phép thâm tách Western.

Các chất phân tích dùng để phát hiện có thể có thể được lấy ví dụ bằng các mẫu như mô hoặc dịch thể lấy từ sinh vật (ví dụ, máu (máu toàn phần, huyết tương, huyết thanh, hoặc tế bào cụ thể như hồng cầu, bạch cầu hoặc tế bào lympho), nước tiểu, nước bọt, v.v.); giống tế bào nuôi cấy; và tế bào nuôi cấy (dòng tế bào đã ổn định, tế bào nuôi cấy sơ cấp, tế bào cấy truyền, v.v.). Nguồn chất phân tích như vậy không được giới hạn cụ thể. Các ví dụ bao gồm chuột cống, chó, cừu, dê, lợn, mèo, người, ngựa, bò, trâu, bò Tây Tạng, thỏ, chuột nhắt, chuột túi má, và chuột lang.

Kháng thể PD-L1 theo sáng chế có thể được đánh dấu đồng vị phóng xạ, enzym, chất phát quang, chất phát huỳnh quang, biotin, hoặc dạng tương tự. Nếu phản ứng với kháng thể sơ cấp (kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế) mà liên kết (gắn kết) đặc hiệu với phân tử đích (PD-L1) được kèm theo phản ứng với kháng thể thứ cấp mà liên kết (gắn kết) với kháng thể sơ cấp để phát hiện phân tử đích, thì việc đánh dấu kháng thể thứ cấp là thích hợp.

Do PD-L1 được biểu hiện ở mức cao trong tế bào ung thư và tế bào nhiễm virus, chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để chẩn đoán bệnh ung thư và/hoặc bệnh nhiễm trùng. Thông thường, lượng (nồng độ) PD-L1 trong chất phân tích được xác định trên cơ sở lượng (nồng độ) phức chất của PD-L1 và kháng thể kháng PD-L1. Khi lượng (nồng độ) PD-L1 trong chất phân tích là cao so với đối chứng âm tính (ví dụ, mô xung quanh khỏe mạnh (mô liên kết, mạch máu, v.v.)), chất phân tích có thể được chẩn đoán là gây bệnh ung thư và/hoặc bệnh nhiễm trùng. Theo cách khác, nếu PD-L1 được phát

hiện trong chất phân tích, chất phân tích có thể được chẩn đoán là gây bệnh ung thư và/hoặc bệnh nhiễm trùng.

Các ví dụ về bệnh ung thư và/hoặc bệnh nhiễm trùng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh tân sinh (ví dụ, u hắc sắc tố ác tính, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư buồng trứng và dạng tương tự), bệnh bạch cầu, bệnh John, bệnh biến trùng (anaplasmosis), bệnh viêm vú do vi khuẩn, bệnh viêm vú do nấm, bệnh nhiễm trùng do mycoplasma (như bệnh viêm vú do mycoplasma, bệnh viêm phổi do mycoplasma hoặc dạng tương tự), bệnh lao, bệnh nhiễm trùng do *Theileria orientalis*, bệnh do Cryptosporidia, bệnh nhiễm coccidia, bệnh do trypanosoma và bệnh do leishmania.

Chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để chọn các động vật đích thích hợp cho trị liệu bằng cách sử dụng kháng thể kháng PD-L1. Ví dụ, các động vật đáp ứng hai điểm sau có thể được coi là động vật tuyển chọn.

1. Trường hợp được chẩn đoán là mắc bệnh ung thư (như u hắc sắc tố) hoặc bệnh nhiễm trùng trong xét nghiệm bệnh lý
2. Trường hợp được phát hiện là dương tính với kháng thể kháng PD-L1

Đối chứng âm tính có thể là mô xung quanh khỏe mạnh (mô liên kết, mạch máu, v.v.), và đối chứng dương tính có thể là trường hợp bệnh ung thư (như u hắc sắc tố) hoặc nhiễm trùng. Về cơ bản, các động vật có u dương tính trong nhuộm hóa mô miễn dịch hầu hết các vùng có thể được thực hiện thử nghiệm lâm sàng.

Các động vật đích không được giới hạn cụ thể và có thể bao gồm chuột cống, chó, cừu, dê, lợn, mèo, người, ngựa, bò, trâu, bò Tây Tạng, thỏ, chuột nhắt, chuột túi má, và chuột lang.

Chế phẩm theo sáng chế có thể còn bao gồm các thuốc thử để phát hiện chất đánh dấu, các chất pha loãng, nước rửa, tờ hướng dẫn mô tả tiêu chuẩn chẩn đoán/chọn, v.v..

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn có tham chiếu đến các ví dụ. Tuy nhiên, sáng chế không được giới hạn ở các ví dụ này.

Ví dụ 1

1. Giới thiệu

Yếu tố gây chết tế bào theo chương trình 1 (PD-1), một loại thụ thể ức chế miễn dịch, và phối tử của nó, tức là phối tử gây chết tế bào theo chương trình 1 (PD-L1), là các phân tử được nhận dạng bởi Giáo sư và các đồng tác giả, Đại học Tasuku Honjo và Kyoto, dưới dạng các yếu tố ức chế đáp ứng miễn dịch quá mức và liên quan mật thiết đến tính dung nạp miễn dịch. Mới đây, đã giải thích được rằng các phân tử này cũng liên quan đến sự ức chế miễn dịch trong bệnh nhiễm trùng và u ở nhiều động vật. Trong ví dụ theo sáng chế, kháng thể đơn dòng kháng PD-L1 của bò được điều chế bằng cách gây miễn dịch cho chuột cống, và tiếp theo một dòng (6C11-3A11) có khả năng phát hiện PD-L1 của chó được chọn. Ngoài ra, các tác giả sáng chế thực hiện nhuộm hóa mô miễn dịch để kiểm tra liệu kháng thể kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 có thể hữu ích để phát hiện PD-L1 trong các u ác tính của chó (như u hắc sắc tố) và các bệnh nhiễm trùng ở lợn/cừu hay không.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1 Tế bào sản xuất kháng thể đơn dòng của chuột cống kháng PD-L1 của bò

Trình tự nucleotit của PD-L1 của bò đã được nhận dạng (Ikebuchi R, Konnai S, Shirai T, Sunden Y, Murata S, Onuma M, Ohashi K. Vet Res. 2011 Sep 26;42:103). Dựa trên thông tin trình tự này, PD-L1 của bò tái tổ hợp được điều chế. Chuột cống được gây miễn dịch trong gan bàn chân bằng protein tái tổ hợp này, và tế bào lai được thiết lập bằng phương pháp hạch bạch huyết chậu hông. Kết quả là, các tế bào lai sản xuất kháng thể đơn dòng của chuột cống kháng PD-L1 của bò được thu (Ikebuchi R, Konnai S, Okagawa T, Yokoyama K, Nakajima C, Suzuki Y, Murata S, Ohashi K. Immunology 2014 Aug.; 142(4):551-561). Kháng thể chuột cống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 là một trong số các kháng thể đơn dòng được thiết lập từ chuột cống được gây miễn dịch đã mô tả trên đây.

2.2 Nhận dạng gen mã hóa PD-L1 của chó có chiều dài đầy đủ

Để xác định chiều dài đầy đủ của cADN mã hóa PD-L1 của chó, trước hết các môi PCR được thiết kế dựa trên trình tự nucleotit suy diễn (giả định) của PD-L1 của chó đã đăng ký tại Trung tâm Quốc gia về Thông tin Công nghệ sinh học (NCBI) (số đăng ký trong Ngân hàng gen; XM_541302). Nói vắn tắt, các môi để khuếch đại trình

tự bên trong của khung đọc mở (ORF) của gen này được thiết kế (F và R trong của cPD-L1), và PCR được thực hiện. Đối với các sản phẩm đã khuếch đại, các trình tự nucleotit được xác định bằng máy xác định trình tự kiểu mao dẫn theo phương pháp thông thường. Ngoài ra, để xác định trình tự nucleotit của cADN mã hóa PD-L1 có chiều dài đầy đủ, các môi (cPD-L1 5' GSP và 3'GSP) được thiết kế dựa trên các trình tự cADN mã hóa PD-L1 của chó được xác định trên đây. Tiếp theo, 5'-RACE và 3'-RACE được thực hiện bằng cách sử dụng lần lượt hệ thống 5'-RACE để khuếch đại nhanh các đầu cADN và hệ thống 3'-RACE để khuếch đại nhanh các đầu cADN (Invitrogen). Các đoạn gen nghiên cứu thu được được xác định trình tự như được mô tả trên đây (Maekawa N, Konnai S, Ikebuchi R, Okagawa T, Adachi M, Takagi S, Kagawa Y, Nakajima C, Suzuki Y, Murata S, Ohashi K. PLoS One. 2014 Jun 10;9(6):e98415).

Môi (F trong của cPD-L1): ATGAGAATGTTTAGTGTCTT (SEQ ID NO: 22)

Môi (R trong của cPD-L1): TTATGTCTCTTCAAATTGTATATC (SEQ ID NO: 23)

Môi (cPD-L1 5'GSP): TTTTAGACAGAAAGTGA (SEQ ID NO: 24)

Môi (cPD-L1 3'GSP): GACCAGCTCTTCTTGGGGAA (SEQ ID NO: 25)

2.3 Điều chế tế bào COS-7 biểu hiện PD-L1 của chó

Để điều chế plasmit biểu hiện PD-L1 của chó-EGFP, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng cADN có nguồn gốc PBMC của chó săn thỏ được tổng hợp làm khuôn và các môi được thiết kế bằng cách bổ sung các vị trí nhận biết *Bgl*II và *Eco*RI ở phía đầu 5' (cPD-L1-EGFP F và R). Sản phẩm PCR thu được được cắt bằng *Bgl*II (New England Biolabs) và *Eco*RI (Takara), và tiếp theo được tinh chế bằng FastGene Gel/PCR Extraction Kit (NIPPON Genetics), tiếp theo là tách dòng trong vectơ pEGFP-N2 (Clontech) được xử lý tương tự bằng các enzym giới hạn. Plasmit biểu hiện nghiên cứu thu được được chiết bằng kit QIAGEN Plasmid Midi (Qiagen) và được bảo quản ở -30°C cho đến khi sử dụng trong các thử nghiệm. Sau đây, plasmit biểu hiện điều chế được theo cách này được ký hiệu là pEGFP-N2-cPD-L1.

Môi (cPD-L1-EGFP F): GAAGATCTATGAGAATGTTTAGTGTC (SEQ ID NO: 26)

Môi (cPD-L1-EGFP R): GGAATTCTGTCTCTTCAAATTGTATATC (SEQ ID NO: 27)

Các tế bào COS-7 được cấy truyền ở mật độ 5×10^4 tế bào/cm² trong các đĩa 6 lỗ, và tiếp theo được nuôi cấy qua đêm trong môi trường RPMI 1640 chứa 10% huyết thanh thai bò bất hoạt và 0,01% L-glutamin ở 37°C với sự có mặt của 5% CO₂. pEGFP-N2-cPD-L1 hoặc pEGFP-N2 (đối chứng âm tính) được đưa vào tế bào COS-7 ở 0,4 µg/cm² bằng cách sử dụng Lipofectamine 2000 (Invitrogen). Tế bào được nuôi cấy trong 48 giờ (tế bào biểu hiện cPD-L1 của chó-EGFP và tế bào biểu hiện EGFP). Để xác nhận sự biểu hiện PD-L1 trong các tế bào biểu hiện điều chế được theo cách này, sự định vị nội bào của protein huỳnh quang xanh tăng cường (EGFP) được quan sát bằng kính hiển vi đồng tiêu quét laser đảo ngược LSM700 (ZEISS) (Maekawa N, Konnai S, Ikebuchi R, Okagawa T, Adachi M, Takagi S, Kagawa Y, Nakajima C, Suzuki Y, Murata S, Ohashi K. PLoS One. 2014 Jun 10;9(6):e98415).

2.4 Phản ứng chéo của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 với PD-L1 của chó

Để xác nhận rằng kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 liên kết đặc hiệu với PD-L1 của chó, phép đo đếm tế bào theo dòng chảy được thực hiện bằng cách sử dụng tế bào biểu hiện cPD-L1 của chó-EGFP hoặc tế bào biểu hiện EGFP điều chế được trong mục 2.3 trên đây. 10 µg/ml kháng thể kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 được bổ sung vào 2×10^5 - 1×10^6 tế bào và được phản ứng trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi rửa, kháng thể liên kết với bề mặt tế bào được phát hiện bằng Kháng thể dê kháng Ig chuột chống đã đánh dấu bằng Allophycocyanin (Beckman Coulter). Đối với phân tích này, FACS Verse (Becton, Dickinson và Company) được sử dụng. Về kháng thể đối chứng âm tính, đối chứng isotyp IgG2a chuột chống (κ) (BD Bioscience) được sử dụng. Đối với mỗi công đoạn rửa và pha loãng kháng thể, PBS có bổ sung 10% huyết thanh dê bất hoạt được sử dụng. Kết quả được thể hiện trên Fig. 1.

2.5 Phân tích CDR đối với kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11

Các gen mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 được nhận dạng từ tế bào lai sản xuất kháng thể bằng phương pháp RACE. Các vùng quyết định tính hỗ trợ (CDR) của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 được xác định bằng cách sử dụng NCBI IGBLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>). Kết quả được thể hiện trên Fig. 2.

2.6 Nhuộm hóa mô miễn dịch mô u của chó và mô nhiễm trùng của cừu/lợn

Để xác nhận rằng kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 có thể áp dụng cho nhuộm hóa mô miễn dịch PD-L1 u của chó, các mẫu u của chó đã cố định bằng formalin và gắn trong parafin được nhuộm hóa mô miễn dịch. Theo phương pháp thông thường, các mẫu thu được được loại parafin và tiếp theo được xử lý bằng vi sóng (5 phút, hai lần) trong dung dịch đệm xitrat. Tiếp theo, các mẫu được phản ứng với kháng thể PD-L1 6C11-3A11 (pha loãng 400 lần) trong 30 phút và tiếp theo với Simple Stain Mouse MAX-PO (Rat) (Nichirei Bioscience) trong 30 phút. Để tạo màu, diaminobenzidin (DAB) được phản ứng trong 10 phút.

Kết quả được thể hiện trên Fig. 3, 4, 5-1, 5-2, 6 và 7.

Kháng thể kháng MelanA, kháng thể duy nhất có bán trên thị trường đặc hiệu với u hắc sắc tố, nhuộm tế bào u rất yếu (Fig. 3, bên trái). Mặt khác, kháng thể PD-L1 (6C11-3A11) được thiết lập bởi các tác giả sáng chế nhuộm tế bào u rất mạnh (Fig. 3, Bên phải). Kháng thể PD-L1 (6C11-3A11) có khả năng nhuộm hầu hết các trường hợp u hắc sắc tố.

Trong u hắc sắc tố ở chó, các tế bào u được phát hiện là dương tính lan tỏa đối với kháng thể PD-L1 (6C11-3A11). (Số lượng dương tính/số lượng thử nghiệm = 12/12; tỷ lệ dương tính 100%)

Trong u lympho ở chó, các tế bào u được phát hiện là dương tính lan tỏa đối với kháng thể PD-L1 (6C11-3A11). Trong bệnh ung thư mô liên kết xương ở chó, một số tế bào u được nhuộm nội bào. Trong bệnh ung thư biểu mô tế bào thận ở chó, các tế bào u được phát hiện là dương tính lan tỏa ở nhiều loại mô.

Trong trường hợp bệnh nhiễm listeria ở cừu, ảnh nhuộm PD-L1 của tổn thương não của bệnh nhiễm listeria ở cừu thể hiện các triệu chứng thần kinh được thể hiện trên Fig. 6, ô bên trái. Trong ảnh chụp phóng đại của ảnh này, biểu hiện PD-L1 được quan sát thấy trong các đại thực bào thâm nhiễm vào các tổn thương não (Fig. 6, Bên phải).

Trong trường hợp bệnh nhiễm circovirut typ 2 ở lợn, PD-L1 được nhuộm với các nang dạng lympho, và virus được nhuộm trong các tế bào này (Fig. 7, Bên trái).

Trong trường hợp bệnh viêm phổi do mycoplasma ở lợn, nhiều đại thực bào thâm nhiễm vào các tổn thương phổi, và PD-L1 được nhuộm trong các tế bào thâm nhiễm này (Fig. 7, Bên phải).

Như được mô tả cho đến nay, kháng thể kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 có thể được sử dụng để phát hiện PD-L1 trong nhiều u ở chó (như u hắc sắc tố ác tính) và các bệnh nhiễm trùng ở cừu/lợn bằng nhuộm hóa mô miễn dịch. Điều này gợi ý khả năng sử dụng kháng thể kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 để chẩn đoán trong nhiều động vật và nhiều bệnh.

Ví dụ 2

1. Giới thiệu

Các kháng thể đơn dòng có thể được sản xuất bằng cách nuôi cấy tế bào lai và tinh chế kháng thể từ dịch nổi môi trường nuôi cấy thu được. Theo cách khác, khi trình tự nucleotit của kháng thể nghiên cứu được nhận dạng, tế bào biểu hiện kháng thể có thể được điều chế bằng cách chuyển nhiễm tế bào đã nuôi cấy bằng vector dùng để biểu hiện trình tự nucleotit này; tế bào biểu hiện kháng thể điều chế được theo cách này có thể được sử dụng dưới dạng thay thế cho tế bào lai. Trong ví dụ theo sáng chế, một phương pháp sẽ được minh họa dưới đây trong đó kháng thể được sản xuất bằng hệ biểu hiện protein bằng cách sử dụng vector biểu hiện và tế bào động vật có vú.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1 Điều chế vector biểu hiện kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11

Dựa trên trình tự nucleotit của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 nhận dạng được trong mục 2.5 của Ví dụ 1 trên đây, việc tổng hợp gen được thực hiện sao cho vị trí nhận biết bởi enzym giới hạn *NotI*, trình tự KOZAK, trình tự chuỗi nhẹ của kháng thể, trình tự tín hiệu bổ sung poly-A (PABGH), trình tự khởi đầu (PCMV), vị trí nhận biết bởi enzym giới hạn *SacI*, trình tự intron (INRBG), trình tự KOZAK, trình tự chuỗi nặng của kháng thể và vị trí nhận biết bởi enzym giới hạn *XbaI* sẽ được định vị theo thứ tự này. Trong trường hợp này, các codon của gen mã hóa kháng thể có thể đã được tối ưu hóa trước tùy theo loại tế bào cần để biểu hiện gen này. Sợi gen đã tổng hợp được hợp nhất vào vector biểu hiện pDC6 (do Giáo sư S. Suzuki, Research Center for Zoonosis Control, Hokkaido University, cung cấp) tại vị trí tách dòng (các

trình tự nhận biết bởi enzym giới hạn *NotI* và *XbaI* nằm phía sau PCMV và giữa INRBG và PABGH) bằng cách sử dụng các trình tự nhận biết bởi enzym giới hạn sao cho các trình tự nêu trên sẽ được định vị theo thứ tự nêu trên để nhờ đó cấu trúc nên vector biểu hiện pDC6 mã hóa kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò.

2.2 Biểu hiện kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11

Kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò vector biểu hiện pDC6 như điều chế được trong mục 2.1 trên đây được chuyển nhiễm vào tế bào CHO-DG44 (CHO-DG44(dfhr^{-/-})) là tế bào khuyết dihydrofolat reductaza, và các dòng có mức biểu hiện cao được chọn bằng thẩm tách điểm. Để gia tăng mức biểu hiện, xử lý khuếch đại gen có thể được thực hiện bằng cách bổ sung tải lên tế bào trong môi trường chứa 60 nM, 250 nM hoặc 1000 nM metotrexat (Mtx). Các tế bào điều chế được theo cách này biểu hiện ổn định kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 được chuyển sang môi trường Opti-CHO không chứa Mtx. Bằng cách nuôi cấy các tế bào này trong điều kiện lắc trong 14 ngày (125 rpm, 37°C, 5% CO₂), dịch nổi chứa kháng thể nghiên cứu có thể được thu. Kháng thể trong dịch nổi có thể được tinh chế bằng các phương pháp đã biết như sắc ký ái lực hoặc sắc ký trao đổi ion để sử dụng trong nhiều thử nghiệm.

Ví dụ 3

1. Giới thiệu

Nhằm thiết lập phương pháp chẩn đoán mới đối với các bệnh ung thư, kháng thể kháng PD-L1 dạng khảm chuột chống-người được thu trong ví dụ theo sáng chế bằng cách nuôi cấy tế bào trứng chuột túi má Trung Quốc (tế bào CHO) mà sẽ biểu hiện gen kháng thể dạng khảm trong đó gen vùng biến đổi của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 được kết hợp với gen vùng biến đổi của globulin miễn dịch của người (IgG4) .

2. Vật liệu và phương pháp

2.1 Điều chế vector biểu hiện kháng thể kháng PD-L1 dạng khảm chuột chống-người (Fig. 10)

Dưới đây, kháng thể kháng PD-L1 dạng khảm chuột chống-người được thiết lập bằng cách sử dụng kháng thể đơn dòng của chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11

làm vùng biến đổi của nó.

Nói vắn tắt, các gen mã hóa vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được nhận dạng từ tế bào lai sản xuất kháng thể chuột chống PD-L1 của bò 6C11-3A11. Ngoài ra, trình tự nucleotit được điều chế bằng cách lần lượt liên kết các gen mã hóa vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể chuột chống nêu trên với vùng ổn định của chuỗi nặng IgG4 và vùng ổn định của chuỗi nhẹ Kappa của kháng thể người đã biết. Sau khi tối ưu hóa codon, việc tổng hợp gen được thực hiện sao cho vị trí nhận biết bởi enzym giới hạn *NotI*, trình tự KOZAK, trình tự chuỗi nhẹ của kháng thể dạng khảm, trình tự tín hiệu bổ sung poly-A (PABGH), trình tự khởi đầu (PCMV), vị trí nhận biết bởi enzym giới hạn *SacI*, trình tự intron (INRBG), trình tự KOZAK, trình tự chuỗi nặng của kháng thể dạng khảm và vị trí nhận biết bởi enzym giới hạn *XbaI* sẽ được định vị theo thứ tự này. Sợi gen tổng hợp được được hợp nhất vào vector biểu hiện pDC6 (do Giáo sư S. Suzuki, Research Center for Zoonosis Control, Hokkaido University, cung cấp) tại vị trí tách dòng (các trình tự nhận biết bởi enzym giới hạn *NotI* và *XbaI* nằm phía sau PCMV và giữa INRBG và PABGH) bằng cách sử dụng các trình tự nhận biết bởi enzym giới hạn để cho các trình tự nêu trên sẽ được định vị theo thứ tự nêu trên (Fig. 10). Do đó, vector biểu hiện kháng thể kháng PD-L1 dạng khảm chuột chống-người được cấu trúc. Vector biểu hiện này được chuyển nhiễm vào tế bào CHO-DG44 (CHO-DG44(d^{dhfr}⁻/⁻)) là tế bào khuyết dihydrofolat reductaza, và các dòng có mức biểu hiện cao được chọn bằng thẩm tách điểm. Để gia tăng mức biểu hiện, xử lý khuếch đại gen có thể được thực hiện bằng cách bổ sung tải lên tế bào trong môi trường chứa 60 nM, 250 nM hoặc 1000 nM metotrexat (Mtx). Các tế bào điều chế được theo cách này biểu hiện ổn định kháng thể kháng PD-L1 dạng khảm chuột chống-người 6C11-3A11 được chuyển sang môi trường Opti-CHO không chứa Mtx. Bằng cách nuôi cấy các tế bào này trong điều kiện lắc trong 14 ngày (125 rpm, 37°C, 5% CO₂), dịch nổi chứa kháng thể nghiên cứu có thể được thu. Kháng thể trong dịch nổi có thể được tinh chế bằng các phương pháp đã biết như sắc ký ái lực hoặc sắc ký trao đổi ion để sử dụng trong nhiều thử nghiệm.

Ví dụ 4

1. Giới thiệu

Về PD-L1 trong u của chó, phương pháp phát hiện bằng nhuộm hóa mô miễn dịch với kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6G7-E1 là đã được thiết lập trước đó, và biên dạng biểu hiện trong nhiều u đã được thông báo (Maekawa N, Konnai S, Okagawa T, Ikebuchi R, Izumi Y, Takagi S, Kagawa Y, Nakajima C, Suzuki Y, Kato Y, Murata S, Ohashi K. PLoS One. 2016 Jun 11(6): e0157176). Trong ví dụ theo sáng chế, để kiểm tra liệu kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 là hữu hiệu hơn so với kháng thể kháng PD-L1 6G7-E1 hiện có trong phân tích về sự biểu hiện của PD-L1 trong u của chó, nhuộm hóa mô miễn dịch của nhiều u của chó được thực hiện để nhờ đó so sánh trực tiếp độ nhạy phát hiện PD-L1 của 6G7-E1 và 6C11-3A11.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1 So sánh bằng phép đo đếm tế bào theo dòng chảy bằng cách sử dụng tế bào CHO-DG44 biểu hiện ổn định PD-L1 của chó-EGFP (Fig. 11)

Trước hết, để điều chế tế bào biểu hiện màng PD-L1 của chó, 2,5 μ g plasmid biểu hiện PD-L1 của chó-EGFP (pEGFP-N2-cPD-L1) điều chế được trong mục 2.3 của Ví dụ 1 hoặc pEGFP-N2 (đối chứng âm tính) được đưa vào 4×10^6 tế bào CHO-DG44 bằng cách sử dụng Lipofectamine LTX (Invitrogen). Bốn tám giờ sau, môi trường được thay bằng môi trường CD DG44 (Life Technologies) chứa G418 (Enzo Life Science) 800 μ g/ml, GlutaMAX supplement (Life Technologies) 20 ml/L, và 10% Pluronic F-68 (Life Technologies) 18 ml/L, tiếp theo là chọn các tế bào biểu hiện ổn định và tách dòng bằng phương pháp pha loãng giới hạn. Tế bào biểu hiện màng PD-L1 của chó hoặc tế bào biểu hiện EGFP PD-L1 của chó được phản ứng với kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 hoặc 6G7-E1 ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau khi rửa, các kháng thể liên kết với bề mặt tế bào được phát hiện bằng Kháng thể dê kháng Ig chuột chống đã đánh dấu bằng Allophycocyanin (Beckman Coulter). Để phân tích, FACS Verse (Becton, Dickinson và Company) được sử dụng. Về đối chứng âm tính, đối chứng isotyp IgG2a (κ) hoặc IgM (κ) chuột chống (BD Bioscience) được sử dụng. Đối với mỗi công đoạn rửa và pha loãng kháng thể, PBS có bổ sung 10% huyết thanh dê bất hoạt được sử dụng.

Kết quả được thể hiện trên Fig. 11. Kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 và 6G7-E1 liên kết đặc hiệu với tế bào biểu hiện màng PD-L1 của chó.

Cường độ huỳnh quang thu được với 6C11-3A11 cao hơn so với 6G7-E1, chứng tỏ rằng 6C11-3A11 là kháng thể có ái lực cao hơn.

2.2 So sánh độ nhạy phát hiện của cả hai kháng thể trong phân tích biểu hiện PD-L1 của các u của chó (Nhuộm hóa mô miễn dịch)

Bằng cách sử dụng các mẫu bệnh ung thư biểu mô tế bào vảy da của chó (n=5), bệnh ung thư biểu mô tuyến mũi (n=5), bệnh ung thư biểu mô tế bào chuyển tiếp (n=5), bệnh ung thư biểu mô tuyến túi hậu môn (n=5), bệnh ung thư mô liên kết mềm (n=5) và bệnh ung thư mô liên kết xương (n=5), nhuộm hóa mô miễn dịch bằng kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 được thực hiện theo phương pháp được mô tả trong mục 2.6 của Ví dụ 1. Với kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6G7-E1, nhuộm hóa mô miễn dịch được thực hiện theo cách tương tự bằng cách sử dụng các phần được tạo ra từ cùng chất phân tích. Nồng độ cuối của 6G7-E1 được sử dụng trong trường hợp này là 10 µg/ml, và kháng thể dê kháng IgM chuột chống được đánh dấu bằng biotin (Jackson ImmunoResearch Laboratories) được sử dụng làm kháng thể thứ cấp.

Kết quả được thể hiện trên Fig. 12 và 13. Mặc dù các tín hiệu cụ thể không được quan sát thấy trong bệnh ung thư biểu mô tế bào vảy, bệnh ung thư biểu mô tuyến mũi, bệnh ung thư biểu mô tế bào chuyển tiếp, bệnh ung thư biểu mô tuyến túi hậu môn và bệnh ung thư mô liên kết mềm khi nhuộm bằng 6G7-E1, các phản ứng dương tính thỏa đáng được thu khi nhuộm bằng 6C11-3A11. Mặt khác, các tín hiệu cụ thể cũng thu được bằng 6G7-E1 trong bệnh ung thư mô liên kết xương nhưng việc nhuộm bằng 6C11-3A11 cho cường độ tín hiệu cao hơn. Tỷ lệ dương tính với PD-L1 của các u này thu được bằng nhuộm 6C11-3A11 là 100% (5 trên 5 trường hợp) trong tất cả các loại u nêu trên ngoại trừ bệnh ung thư mô liên kết mềm trở nên dương tính với PD-L1 ở tỷ lệ 80% (4 trên 5 trường hợp).

Tiếp theo, các mẫu u hắc sắc tố ác tính miệng (n=17), bệnh ung thư biểu mô tuyến vú (n=10), bệnh ung thư mô liên kết mô bào (n=10), u lympho tế bào B lớn lan tỏa (n=10) và u lây truyền qua đường giao cấu (n=4) được nhuộm hóa mô miễn dịch bằng 6C11-3A11 để phân tích sự biểu hiện PD-L1 trong đó.

Kết quả được thể hiện trên Fig. 14. Tỷ lệ dương tính với PD-L1 là 100% trong u hắc sắc tố ác tính miệng (17 trên 17 trường hợp), 100% trong bệnh ung thư biểu mô

tuyến vú (10 trên 10 trường hợp), 20% bệnh ung thư mô liên kết mô bào (2 trên 10 trường hợp), 20% bệnh u lympho tế bào B lớn lan tỏa (2 trên 10 trường hợp) và 0% bệnh u lây truyền qua đường giao cấu (0 trên 4 trường hợp).

Các kết quả được mô tả trên đây chỉ ra rằng 6C11-3A11 là vượt trội so với kháng thể kháng PD-L1 hiện có 6G7-E1 trong việc phát hiện PD-L1 của chó.

Ví dụ 5

1. Giới thiệu

Bệnh Johne là bệnh nhiễm trùng mạn tính ở bò do *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* gây ra. Ở gia súc mắc bệnh Johne, sự biểu hiện PD-L1 đã được xác nhận trong các tế bào nhiễm *M. avium* subsp. *paratuberculosis* trong các tổn thương hồi tràng là vị trí khu trú của bệnh nhiễm vi khuẩn này (Okagawa T, Konnai S, Nishimori A, Ikebuchi R, Mizorogi S, Nagata R, Kawaji S, Tanaka S, Kagawa Y, Murata S, Mori Y và Ohashi K. Infect Immun, 84:77-89, 2016). Trong ví dụ theo sáng chế, nhuộm hóa mô miễn dịch của các tổn thương hồi tràng của gia súc mắc bệnh Johne được thực hiện để kiểm tra liệu kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 có thể được sử dụng để phát hiện PD-L1 của bò hay không.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Cấu trúc tế bào biểu hiện PD-L1 của bò

Trình tự nucleotit của cADN có chiều dài đầy đủ của gen mã hóa PD-L1 của bò (số đăng ký trong Ngân hàng gen AB510902; Ikebuchi R, Konnai S, Shirai T, Sunden Y, Murata S, Onuma M, Ohashi K. Vet. Res. 2011 Sep. 26; 42:103) được xác định. Dựa trên trình tự nucleotit thu được, tế bào biểu hiện màng PD-L1 của bò được điều chế. Trước hết, để điều chế plasmit biểu hiện PD-L1 của bò, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng cADN được tạo ra từ PBMC của bò tổng hợp làm khuôn và các môi có các vị trí nhận biết *NheI* và *XhoI* ở phía đầu 5' (boPD-L1-EGFP F và R). Các sản phẩm PCR thu được được cắt bằng *NheI* (Takara) và *XhoI* (Takara), được tinh chế bằng FastGene Gel/PCR Extraction Kit (NIPPON Genetics) và được tách dòng trong vector pEGFP-N2 (Clontech) đã xử lý bằng enzym giới hạn tương tự. Plasmit biểu hiện nghiên cứu thu được được chiết bằng kit QIAGEN Plasmid Midi (Qiagen) và được bảo quản ở -30°C cho đến khi sử dụng trong các thử nghiệm. Sau đây, plasmit biểu hiện điều chế được

theo cách này được ký hiệu là pEGFP-N2-boPD-L1.

Mồi (boPD-L1-EGFP F): CTAGCTAGCACCATGAGGATATATAGTGTCTTAAC
(SEQ ID NO: 124)

Mồi (boPD-L1-EGFP R): CAATCTCGAGTTACAGACAGAAGATGACTGC (SEQ
ID NO: 125)

Tế bào biểu hiện màng PD-L1 của bò được điều chế bằng các quy trình được mô tả dưới đây. Trước hết, 2,5 μ g pEGFP-N2-boPD-L1 hoặc pEGFP-N2 (đối chứng âm tính) được đưa vào 4×10^6 tế bào CHO-DG44 bằng cách sử dụng Lipofectamine LTX (Invitrogen). Bốn mươi tám giờ sau, môi trường được thay bằng môi trường CD DG44 (Life Technologies) chứa G418 (Enzo Life Science) 800 μ g/ml, GlutaMAX supplement (Life Technologies) 20 ml/L, và 10% Pluronic F-68 (Life Technologies) 18 ml/L; sau đó, việc chọn lọc được thực hiện đồng thời với tách dòng bằng phương pháp pha loãng giới hạn (tế bào biểu hiện PD-L1 của bò và tế bào biểu hiện EGFP). Để xác nhận sự biểu hiện PD-L1 của bò trong tế bào biểu hiện PD-L1 của bò điều chế được theo cách này, sự khu trú nội bào của EGFP được quan sát bằng kính hiển vi đồng tiêu quét laze đảo ngược LSM700 (ZEISS).

2.2. Tính đặc hiệu liên kết của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 với PD-L1 của bò

Bằng phép đo đếm tế bào theo dòng chảy đã xác nhận được rằng kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 liên kết đặc hiệu với tế bào biểu hiện PD-L1 của bò (được mô tả trên đây). Trước hết, kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 hoặc đối chứng isotyp IgG2a chuột cống (κ) (BD Biosciences) làm đối chứng âm tính được phản ứng với tế bào biểu hiện PD-L1 của bò hoặc tế bào biểu hiện EGFP (đối chứng âm tính) ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau khi rửa, kháng thể dê kháng Ig chuột cống được đánh dấu bằng APC (Southern Biotech) được phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau khi rửa, các kháng thể liên kết với bề mặt tế bào được phát hiện bằng FACS Verse (BD Biosciences). Đối với mỗi công đoạn rửa và pha loãng kháng thể, PBS có bổ sung 1% albumin huyết thanh bò (Sigma-Aldrich) được sử dụng.

Kết quả được thể hiện trên Fig. 15. Cho thấy rằng kháng thể chuột chống kháng

PD-L1 của bò 6C11-3A11 liên kết đặc hiệu với tế bào biểu hiện PD-L1 của bò.

2.3. Nhuộm hóa mô miễn dịch bằng cách sử dụng các mẫu mô từ gia súc bị nhiễm trùng

Để xác nhận rằng kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 có thể áp dụng cho nhuộm hóa mô miễn dịch PD-L1 của mô bò, nhuộm hóa mô miễn dịch được thực hiện với các mẫu mô bò đã được cố định bằng formalin, gắn trong parafin. Nói vắn tắt, các khối mô hồi tràng từ gia súc phát triển tự nhiên bệnh Johne (#1, thể hiện các triệu chứng lâm sàng của bệnh Johne như tiêu chảy và gầy mòn nặng), gia súc được gây nhiễm thực nghiệm bằng *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (#65, các triệu chứng lâm sàng như giải phóng *M. avium* subsp. *paratuberculosis* và tiêu chảy được quan sát thấy; Okagawa T, Konnai S, Nishimori A, Ikebuchi R, Mizorogi S, Nagata R, Kawaji S, Tanaka S, Kagawa Y, Murata S, Mori Y và Ohashi K. Infect Immun, 84:77-89, 2016) và gia súc đối chứng không bị nhiễm trùng (C#6) (các khối này do Tiến sỹ Yasuyuki Mori, National Institute of Animal Health, National Agriculture and Food Research Organization, cung cấp) được sử dụng để nhuộm. Theo phương pháp thông thường, các mẫu được nhuộm được loại parafin và tiếp theo được xử lý bằng vi sóng (5 phút, hai lần) trong dung dịch đệm xitrat. Tiếp theo, các mẫu được phản ứng với kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 (pha loãng 400 lần) trong 30 phút và tiếp theo với Simple Stain Mouse MAX-PO (Rat) (Nichirei Bioscience) trong 30 phút. Cuối cùng, các mẫu được phản ứng với diaminobenzidin (DAB) trong 10 phút để tạo màu, tiếp theo là quan sát bằng kính hiển vi quang học.

Kết quả được thể hiện trên Fig. 16. Kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 phát hiện sự biểu hiện PD-L1 trong các tế bào nhiễm *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (được xác nhận bằng phép nhuộm Ziehl-Neelsen) trong các tổn thương hồi tràng của gia súc #1 phát triển tự nhiên bệnh Johne và gia súc được gây nhiễm thực nghiệm #65 (Fig. 16a, b). Mặt khác, PD-L1 không được biểu hiện trong hồi tràng của gia súc không được gây nhiễm (C#6), nên phản ứng của kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 (phản ứng không đặc hiệu) không nhận biết được (Fig. 16a).

Như được mô tả trên đây, cho thấy rằng kháng thể chuột chống kháng PD-L1 của bò 6C11-3A11 có thể được sử dụng để phát hiện PD-L1 trong mô bò bằng nhuộm hóa mô miễn dịch.

Tất cả các công bố, patent và đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế trích dẫn trong bản mô tả này đều được đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn.

Khả năng ứng dụng công nghiệp

Kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế có thể áp dụng cho việc chẩn đoán các bệnh ung thư và/hoặc bệnh nhiễm trùng. Ngoài ra, kháng thể kháng PD-L1 theo sáng chế cũng có thể áp dụng cho việc chọn lọc các động vật đích thích hợp để điều trị bằng kháng thể kháng PD-L1.

Danh mục trình tự

<SEQ ID NO: 1>

SEQ ID NO: 1 thể hiện trình tự axit amin của CDR1 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (VL) của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

KSISKY

<SEQ ID NO: 2>

SEQ ID NO: 2 thể hiện trình tự axit amin của CDR3 của VL của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

QQHNEYPLT

<SEQ ID NO: 3>

SEQ ID NO: 3 thể hiện trình tự axit amin của CDR1 của vùng biến đổi của chuỗi nặng (VH) của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

GYTFTDYI

<SEQ ID NO: 4>

SEQ ID NO: 4 thể hiện trình tự axit amin của CDR2 của VH của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

INPDSGGN

<SEQ ID NO: 5>

SEQ ID NO: 5 thể hiện trình tự axit amin của CDR3 của VH của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

ARGITMMVVISHWKDFD

<SEQ ID NO: 6>

SEQ ID NO: 6 thể hiện trình tự axit amin của VL của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

MRVQIQFWGLLLLWTSGIQCDVQMTQSPSNLAASPGESVSINCKASKSISKYL
AWYQQKPGKANKLLIYSGSTLQSGTPSRFSGSGSGTDFTLTIRNLEPEDFGLYY
CQQHNEYPLTFGSGTKLEIK

<SEQ ID NO: 7>

SEQ ID NO: 7 thể hiện trình tự axit amin của VH của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

MGWICIFLVAIATGAHSQVKLLQSGAALVKPGDSVKMSCKASGYTFTDYIIH
WVKQSHGKSLEWIGYINPDSGGNNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMEFSRLTS
EDSAIYYCARGITMMVVISHWKDFDWGPGMTMTVSS

<SEQ ID NO: 8>

SEQ ID NO: 8 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

RADAAPTVSIFPPSTEQLATGGASVVCLMNNFYPRDISVKWKIDGTERRDGLV
DSVTDQDSKDSTYSMSSTLSLTKADYESHNLYTCEVVHKTSSSPVVKSFNRNE
C*

<SEQ ID NO: 9>

SEQ ID NO: 9 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi nặng (CH) của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

AETTAPSVYPLAPGTALKSNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGALSSGVHTF
PAVLQSGLYTLTSSVTVPSSTWSSQAVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRECNPCGC
TGSEVSSVFIFPPKTKDVLITLTPKVTCTVVDISQNDPEVRFSWFIDDVEVHTA
QTHAPEKQSNSTLRVSELPIVHRDWLNGKTFKCKVNSGAFPAPIEKSSISKPEG
TPRGPQVYTMAPPKEEMTQSQVSITCMVKGFYPPDIYTEWKMNGQPQENYK
NTPPTMDTDGSYFLYSKLVKKETWQQGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHS

PGK*

<SEQ ID NO: 10>

SEQ ID NO: 10 thể hiện trình tự axit amin (GenBank: #V01241.1) của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột cống (IgG2a).

ADAAPTVSIFPPSTEQLATGGASVVCLMNNFYPRDISVKWKIDGTERRDGVLD
SVTDQDSKDYSTYSMSSTLSLTKADYESHNLTYCEVVHKTSSSPVVKSFNRNEC

*

<SEQ ID NO: 11>

SEQ ID NO: 11 thể hiện trình tự axit amin (GenBank: #X16129.1) của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột cống (IgG2a).

RADAAPTVSIFPPSTEQLATGGASVVCLMNNFYPRDISVKWKIDGTERRDGVLD
DSVTDQDSKDYSTYSMSSTLSLSKADYESHNLTYCEVVHKTSSSPVVKSFNRNE

C

<SEQ ID NO: 12>

SEQ ID NO: 12 thể hiện trình tự axit amin (GenBank: #DQ402471.1) của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột cống (IgG2a).

AAPTVSIFPPSMEQLTSGGATVVCVNNFYPRDISVKWKIDGSEQRDGVLD
SVTDQDSKDYSTYSMSSTLSLTKVEYERHNLYTCEVVHKTSSSPVVKSFNRNEC*

<SEQ ID NO: 13>

SEQ ID NO: 13 thể hiện trình tự axit amin (GenBank: #DQ402472.1) của CH của kháng thể chuột cống (IgG2a).

APSVYPLAPGTALKSNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGALSSGVHTFPAVL
QSGLYTLTSSVTVPSSTWSSQAVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRECNPCGCTGSE
VSSVFIFPPKTKDVLITITLTPKVTCTVVDISQNDPEVRFSSWFIDDEVHTAQTH
APEKQSNSTLRVSSELPVHRDWLNGKTKCKVNSGAFPAPIEKSKPEGTPR
GPQVYTMAPPKEEMTQSQVSITCMVKGFYPPDIYTEWKMNGQPQENYKNTP
PTMDTDGSYFLYSKLNKKETWQQGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK

*

<SEQ ID NO: 14>

SEQ ID NO: 14 thể hiện trình tự nucleotit của VL của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

ATGAGGGTCCAGATTCAGTTTTGGGGGCTTCTTCTGCTCTGGACATCAGGTA
TACAGTGTGATGTCCAGATGACCCAGTCTCCATCTAATCTTGCTGCCTCTCC
TGGAGAAAGTGTTTCCATCAATTGCAAGGCAAGTAAGAGCATTAGCAAGTA
TTTAGCCTGGTATCAACAGAAACCTGGGAAAGCAAATAAGCTTCTTATCTAC
TCTGGGTCAACTTTGCAATCTGGAAGTCCATCGAGGTTTCAAGTGGCAGTGGA
TCTGGTACAGATTTCACTCTCACCATCAGAAACCTGGAGCCTGAAGATTTT
GGACTCTATTACTGTCAACAGCATAATGAATACCCGCTCACGTTTCGGTTCTG
GGACCAAGCTGGAGATCAAA

<SEQ ID NO: 15>

SEQ ID NO: 15 thể hiện trình tự nucleotit của VH của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

ATGGGATGGATCTGTATCATCTTTCTTGTGGCAATAGCTACAGGTGCCCCACT
CCCAGGTCAAGCTGCTGCAGTCTGGGGCTGCACTGGTGAAGCCTGGGGAC
TCTGTGAAGATGTCTTGCAAAGCTTCTGGTTATACATTCAGTACTACATTAT
ACACTGGGTGAAGCAGAGTCATGGAAAAAGCCTTGAGTGGATTGGTTATAT
TAATCCTGACAGTGGTGGTAATACTACAATGAAAAGTTCAAGAGCAAGGC
CACATTGACTGTAGACAAATCCAGCAGCACAGCCTATATGGAGTTTAGCAG
ATTGACATCTGAGGATTCTGCAATCTACTACTGTGCAAGAGGGATTACCATG
ATGGTAGTTATTAGCCACTGGAAGTTTGACTTCTGGGGCCCAGGAACCATG
GTCACCGTGTCTCA

<SEQ ID NO: 16>

SEQ ID NO: 16 thể hiện trình tự nucleotit của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

CGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCTATCTTCCCACCATCCACGGAACAGT
TAGCAACTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCCTCATGAACAACTTCTATCCCA
GAGACATCAGTGTCAAGTGGAAGATTGATGGCACTGAACGACGAGATGGT

GTCCTGGACAGTGTTACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACGTACAGCAT
GAGCAGCACCCCTCTCGTTGACCAAGGCTGACTATGAAAGTCATAACCTCTA
TACCTGTGAGGTTGTTTCATAAGACATCATCCTCACCCGTCGTCAAGAGCTTC
AACAGGAATGAGTGTTAG

<SEQ ID NO: 17>

SEQ ID NO: 17 thể hiện trình tự nucleotit của CH của kháng thể kháng PD-L1 6C11-3A11 (IgG2a).

GCTGAAACAACAGCCCCATCTGTCTATCCACTGGCTCCTGGAAGTGTCTC
AAAAGTAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTTCCCT
GAGCCAGTCACCGTGACCTGGAAGTCTGGAGCCCTGTCCAGCGGTGTGCA
CACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCTGGACTCTACACTCTCACCAGCTCAGT
GACTGTACCCTCCAGCACCTGGTCCAGCCAGGCCGTCACCTGCAACGTAGC
CCACCCGGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCAAGGGAAT
GCAATCCTTGTGGATGTACAGGCTCAGAAGTATCATCTGTCTTCATCTTCCC
CCCAAAGACCAAAGATGTGCTCACCATCACTCTGACTCCTAAGGTCACGTG
TGTTGTGGTAGACATTAGCCAGAATGATCCCGAGGTCCGGTTCAGCTGGTT
TATAGATGACGTGGAAGTCCACACAGCTCAGACTCATGCCCCGGAGAAGCA
GTCCAACAGCACTTTACGCTCAGTCAGTGAAGTCCCCATCGTGCACCGGGA
CTGGCTCAATGGCAAGACGTTCAAATGCAAAGTCAACAGTGGAGCATTCCC
TGCCCCCATCGAGAAAAGCATCTCCAAACCCGAAGGCACACCACGAGGTC
CACAGGTATACACCATGGCGCCTCCCAAGGAAGAGATGACCCAGAGTCAA
GTCAGTATCACCTGCATGGTAAAAGGCTTCTATCCCCCAGACATTTATACGG
AGTGGAAGATGAACGGGCAGCCACAGGAAAACACTACAAGAACAACCTCCACCT
ACGATGGACACAGATGGGAGTTACTTCCTCTACAGCAAGCTCAATGTAAAG
AAAGAAACATGGCAGCAGGGAAACACTTTCACGTGTTCTGTGCTGCATGA
GGGCCTGCACAACCACCATCTGAGAAGAGTCTCTCCCACTCTCCTGGTAA
ATGA

<SEQ ID NO: 18>

SEQ ID NO: 18 thể hiện trình tự nucleotit (GenBank: #V01241.1) của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột cống (IgG2a).

GGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCTATCTTCCCACCATCCACGGAACAGTT
 AGCAACTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCCTCATGAACAACCTTCTATCCCAG
 AGACATCAGTGTCAAGTGGAAGATTGATGGCACTGAACGACGAGATGGTG
 TCCTGGACAGTGTTACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACGTACAGCATG
 AGCAGCACCCCTCTCGTTGACCAAGGCTGACTATGAAAGTCATAACCTCTAT
 ACCTGTGAGGTTGTTTCATAAGACATCATCCTCACCCGTCGTCAAGAGCTTC
 AACAGGAATGAGTGTTAG

<SEQ ID NO: 19>

SEQ ID NO: 19 thể hiện trình tự nucleotit (GenBank: #X16129.1) của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột cống (IgG2a).

CGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCTATCTTCCCACCATCCACGGAACAGT
 TAGCAACTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCCTCATGAACAACCTTCTATCCCA
 GAGACATCAGTGTCAAGTGGAAGATTGATGGCACTGAACGACGAGATGGT
 GTCCTGGACAGTGTTACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACGTACAGCAT
 GAGCAGCACCCCTCTCGTTGTCCAAGGCTGACTATGAAAGTCATAACCTCTAT
 ACCTGTGAGGTTGTTTCATAAGACATCATCCTCACCCGTCGTCAAGAGCTTC
 AACAGGAATGAGTGTTAG

<SEQ ID NO: 20>

SEQ ID NO: 20 thể hiện trình tự nucleotit (GenBank: #DQ402471.1) của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột cống (IgG2a).

GCCGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCATGGAACAGTTAACATCTG
 GAGGTGCCACAGTCGTGTGCTTCGTGAACAACCTTCTATCCCAGAGACATCA
 GTGTCAAGTGGAAGATTGATGGCAGTGAACAACGAGATGGTGTCTGGAC
 AGTGTTACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACGTACAGCATGAGCAGCAC
 CCTCTCGTTGACCAAGGTTGAATATGAAAGGCATAACCTCTATACCTGTGAG
 GTTGTTTCATAAGACATCATCCTCACCCGTCGTCAAGAGCTTCAACAGGAAT
 GAGTGTTAG

<SEQ ID NO: 21>

SEQ ID NO: 21 thể hiện trình tự nucleotit (GenBank: #DQ402472.1) của CH của kháng

thể chuột cống (IgG2a).

CAGCCCCCTCTGTCTATCCACTGGCTCCTGGAACTGCTCTCAAAAGTAACT
 CCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTCA
 CCGTGACCTGGAACCTCTGGAGCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAG
 CTGTCCTGCAGTCTGGACTCTACACTCTCACCAGCTCAGTGACTGTACCCT
 CCAGCACCTGGTCCAGCCAGGCCGTCACCTGCAACGTAGCCCACCCGGCC
 AGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCAAGGGAATGCAATCCTTG
 TGGATGTACAGGCTCAGAAGTATCATCTGTCTTCATCTTCCCCCAAAGACC
 AAAGATGTGCTCACCATCACTCTGACTCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGGTA
 GACATTAGCCAGAATGATCCCGAGGTCCGGTTCAGCTGGTTTATAGATGACG
 TGGAAGTCCACACAGCTCAGACTCATGCCCCGGAGAAGCAGTCCAACAGC
 ACTTTACGCTCAGTCAGTGAACCTCCCCATCGTGCACCGGGACTGGCTCAAT
 GGCAAGACGTTCAAATGCAAAGTCAACAGTGGAGCATTCCCTGCCCCCATC
 GAGAAAAGCATCTCCAAACCCGAAGGCACACCACGAGGTCCACAGGTATA
 CACCATGGCGCCTCCCAAGGAAGAGATGACCCAGAGTCAAGTCAGTATCA
 CCTGCATGGTAAAAGGCTTCTATCCCCCAGACATTTATACGGAGTGGAAGAT
 GAACGGGCAGCCACAGGAAAACACTACAAGAACTCCACCTACGATGGACA
 CAGATGGGAGTTACTTCCTCTACAGCAAGCTCAATGTAAAGAAAGAAACAT
 GGCAGCAGGGAAACACTTTCACGTGTTCTGTGCTGCATGAGGGCCTGCAC
 AACCACCATACTGAGAAGAGTCTCTCCCACTCTCCTGGTAAATGA

<SEQ ID NO: 22 đến 27>

SEQ ID NO: 22 đến 27 thể hiện trình tự nucleotit của các môi cPD-L1 F trong, cPD-L1 R trong, cPD-L1 5'GSP, cPD-L1 3'GSP, cPD-L1-EGFP F và cPD-L1-EGFP R, theo thứ tự này.

<SEQ ID NO: 28>

SEQ ID NO: 28 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể người.

<SEQ ID NO: 29>

SEQ ID NO: 29 thể hiện trình tự nucleotit của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể người.

<SEQ ID NO: 30>

SEQ ID NO: 30 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể người (IgG4 biến thể 1).

<SEQ ID NO: 31>

SEQ ID NO: 31 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể người (IgG4 biến thể 1).

<SEQ ID NO: 32>

SEQ ID NO: 32 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể người (IgG4 biến thể 2).

<SEQ ID NO: 33>

SEQ ID NO: 33 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể người (IgG4 biến thể 2).

<SEQ ID NO: 34>

SEQ ID NO: 34 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể người (IgG4 biến thể 3).

<SEQ ID NO: 35>

SEQ ID NO: 35 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể người (IgG4 biến thể 3).

<SEQ ID NO: 36>

SEQ ID NO: 36 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột nhắt.

<SEQ ID NO: 37>

SEQ ID NO: 37 thể hiện trình tự nucleotit của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột nhắt.

<SEQ ID NO: 38>

SEQ ID NO: 38 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột nhắt.

<SEQ ID NO: 39>

SEQ ID NO: 39 thể hiện trình tự nucleotit của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột nhắt.

<SEQ ID NO: 40>

SEQ ID NO: 40 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi

kappa) của kháng thể chuột nhất.

<SEQ ID NO: 41>

SEQ ID NO: 41 thể hiện trình tự nucleotit của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột nhất.

<SEQ ID NO: 42>

SEQ ID NO: 42 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột nhất.

<SEQ ID NO: 43>

SEQ ID NO: 43 thể hiện trình tự nucleotit của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể chuột nhất.

<SEQ ID NO: 44>

SEQ ID NO: 44 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG1 biến thể 1).

<SEQ ID NO: 45>

SEQ ID NO: 45 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG1 biến thể 1).

<SEQ ID NO: 46>

SEQ ID NO: 46 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG1 biến thể 2).

<SEQ ID NO: 47>

SEQ ID NO: 47 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG1 biến thể 2).

<SEQ ID NO: 48>

SEQ ID NO: 48 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2a biến thể 1).

<SEQ ID NO: 49>

SEQ ID NO: 49 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2a biến thể 1).

<SEQ ID NO: 50>

SEQ ID NO: 50 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2a biến thể 2).

<SEQ ID NO: 51>

SEQ ID NO: 51 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2a biến thể 2).

<SEQ ID NO: 52>

SEQ ID NO: 52 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2b biến thể 1).

<SEQ ID NO: 53>

SEQ ID NO: 53 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2b biến thể 1).

<SEQ ID NO: 54>

SEQ ID NO: 54 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2b biến thể 2).

<SEQ ID NO: 55>

SEQ ID NO: 55 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2b biến thể 2).

<SEQ ID NO: 56>

SEQ ID NO: 56 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2c biến thể 1).

<SEQ ID NO: 57>

SEQ ID NO: 57 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2c biến thể 1).

<SEQ ID NO: 58>

SEQ ID NO: 58 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2c biến thể 2).

<SEQ ID NO: 59>

SEQ ID NO: 59 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2c biến thể 2).

<SEQ ID NO: 60>

SEQ ID NO: 60 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2c biến thể 3).

<SEQ ID NO: 61>

SEQ ID NO: 61 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG2c biến thể 3).

<SEQ ID NO: 62>

SEQ ID NO: 62 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG3).

<SEQ ID NO: 63>

SEQ ID NO: 63 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể chuột nhất (IgG3).

<SEQ ID NO: 64>

SEQ ID NO: 64 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi lambda) của kháng thể bò.

<SEQ ID NO: 65>

SEQ ID NO: 65 thể hiện trình tự nucleotit của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi lambda) của kháng thể bò.

<SEQ ID NO: 66>

SEQ ID NO: 66 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG1 biến thể 1).

<SEQ ID NO: 67>

SEQ ID NO: 67 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG1 biến thể 1).

<SEQ ID NO: 68>

SEQ ID NO: 68 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG1 biến thể 2).

<SEQ ID NO: 69>

SEQ ID NO: 69 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG1 biến thể 2).

<SEQ ID NO: 70>

SEQ ID NO: 70 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG1 biến thể 3).

<SEQ ID NO: 71>

SEQ ID NO: 71 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG1 biến thể 3).

<SEQ ID NO: 72>

SEQ ID NO: 72 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG2

biến thể 1).

<SEQ ID NO: 73>

SEQ ID NO: 73 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG2 biến thể 1).

<SEQ ID NO: 74>

SEQ ID NO: 74 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG2 biến thể 2).

<SEQ ID NO: 75>

SEQ ID NO: 75 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG2 biến thể 2).

<SEQ ID NO: 76>

SEQ ID NO: 76 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG2 biến thể 3).

<SEQ ID NO: 77>

SEQ ID NO: 77 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG2 biến thể 3).

<SEQ ID NO: 78>

SEQ ID NO: 78 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG3 biến thể 1).

<SEQ ID NO: 79>

SEQ ID NO: 79 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG3 biến thể 1).

<SEQ ID NO: 80>

SEQ ID NO: 80 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG3 biến thể 2).

<SEQ ID NO: 81>

SEQ ID NO: 81 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể bò (IgG3 biến thể 2).

<SEQ ID NO: 82>

SEQ ID NO: 82 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi lambda) của kháng thể chó.

<SEQ ID NO: 83>

SEQ ID NO: 83 thể hiện trình tự nucleotit của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi lambda) của kháng thể chó.

<SEQ ID NO: 84>

SEQ ID NO: 84 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể chó (IgG-D).

<SEQ ID NO: 85>

SEQ ID NO: 85 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể chó (IgG-D).

<SEQ ID NO: 86>

SEQ ID NO: 86 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể cừu.

<SEQ ID NO: 87>

SEQ ID NO: 87 thể hiện trình tự nucleotit của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi kappa) của kháng thể cừu.

<SEQ ID NO: 88>

SEQ ID NO: 88 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi lambda) của kháng thể cừu.

<SEQ ID NO: 89>

SEQ ID NO: 89 thể hiện trình tự nucleotit của vùng ổn định của chuỗi nhẹ (chuỗi lambda) của kháng thể cừu.

<SEQ ID NO: 90>

SEQ ID NO: 90 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể cừu (IgG1).

<SEQ ID NO: 91>

SEQ ID NO: 91 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể cừu (IgG1).

<SEQ ID NO: 92>

SEQ ID NO: 92 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể cừu (IgG2).

<SEQ ID NO: 93>

SEQ ID NO: 93 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể cừu (IgG2).

<SEQ ID NO: 94>

SEQ ID NO: 94 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn

(IgG1^a).

<SEQ ID NO: 95>

SEQ ID NO: 95 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể lớn (IgG1^a).

<SEQ ID NO: 96>

SEQ ID NO: 96 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể lớn (IgG1^b).

<SEQ ID NO: 97>

SEQ ID NO: 97 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể lớn (IgG1^b).

<SEQ ID NO: 98>

SEQ ID NO: 98 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể lớn (IgG2^a).

<SEQ ID NO: 99>

SEQ ID NO: 99 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể lớn (IgG2^a).

<SEQ ID NO: 100>

SEQ ID NO: 100 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể lớn (IgG2^b).

<SEQ ID NO: 101>

SEQ ID NO: 101 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể lớn (IgG2^b).

<SEQ ID NO: 102>

SEQ ID NO: 102 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể lớn (IgG3).

<SEQ ID NO: 103>

SEQ ID NO: 103 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể lớn (IgG3).

<SEQ ID NO: 104>

SEQ ID NO: 104 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể lớn (IgG4^a).

<SEQ ID NO: 105>

SEQ ID NO: 105 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn (IgG4^a).

<SEQ ID NO: 106>

SEQ ID NO: 106 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn (IgG4^b).

<SEQ ID NO: 107>

SEQ ID NO: 107 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn (IgG4^b).

<SEQ ID NO: 108>

SEQ ID NO: 108 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn (IgG5^a).

<SEQ ID NO: 109>

SEQ ID NO: 109 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn (IgG5^a).

<SEQ ID NO: 110>

SEQ ID NO: 110 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn (IgG5^b).

<SEQ ID NO: 111>

SEQ ID NO: 111 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn (IgG5^b).

<SEQ ID NO: 112>

SEQ ID NO: 112 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn (IgG6^a).

<SEQ ID NO: 113>

SEQ ID NO: 113 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn (IgG6^a).

<SEQ ID NO: 114>

SEQ ID NO: 114 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn (IgG6^b).

<SEQ ID NO: 115>

SEQ ID NO: 115 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể lợn (IgG6^b).

<SEQ ID NO: 116>

SEQ ID NO: 116 thể hiện trình tự axit amin của vùng ổn định (CL) của chuỗi nhẹ (dự đoán là Ig lambda) của kháng thể trâu.

<SEQ ID NO: 117>

SEQ ID NO: 117 thể hiện trình tự nucleotit của vùng ổn định (CL) của chuỗi nhẹ (dự đoán là Ig lambda) của kháng thể trâu.

<SEQ ID NO: 118>

SEQ ID NO: 118 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể trâu (dự đoán là IgG1).

<SEQ ID NO: 119>

SEQ ID NO: 119 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể trâu (dự đoán là IgG1).

<SEQ ID NO: 120>

SEQ ID NO: 120 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể trâu (dự đoán là IgG2).

<SEQ ID NO: 121>

SEQ ID NO: 121 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể trâu (dự đoán là IgG2).

<SEQ ID NO: 122>

SEQ ID NO: 122 thể hiện trình tự axit amin của CH (CH1-CH3) của kháng thể trâu (dự đoán là IgG3).

<SEQ ID NO: 123>

SEQ ID NO: 123 thể hiện trình tự nucleotit của CH (CH1-CH3) của kháng thể trâu (dự đoán là IgG3).

<SEQ ID NO: 124>

SEQ ID NO: 124 thể hiện trình tự nucleotit của môi boPD-L1-EGFP F.

<SEQ ID NO: 125>

SEQ ID NO: 125 thể hiện trình tự nucleotit của môi boPD-L1-EGFP R.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể kháng PD-L1 bao gồm (a) chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 có trình tự axit amin KSISKY (SEQ ID NO: 1), CDR2 có trình tự axit amin SGS và CDR3 có trình tự axit amin QQHNEYPLT (SEQ ID NO: 2) và (b) chuỗi nặng bao gồm CDR1 có trình tự axit amin GYTFTDYI (SEQ ID NO: 3), CDR2 có trình tự axit amin INPDSGGN (SEQ ID NO: 4) và CDR3 có trình tự axit amin ARGITMMVVISHWKFD (SEQ ID NO: 5).
2. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể có nguồn gốc từ chuột cống.
3. Kháng thể theo điểm 2, trong đó kháng thể là kháng thể chuột cống kháng PD-L1 của bò.
4. Kháng thể theo điểm 3, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO. 6 và vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 7.
5. Kháng thể theo điểm 1, trong đó vùng ổn định của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin của vùng ổn định của chuỗi kappa.
6. Kháng thể theo điểm 1, trong đó vùng ổn định của chuỗi nặng có trình tự axit amin của vùng ổn định của IgG2a.
7. Kháng thể theo điểm 5, trong đó vùng ổn định của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong bất kỳ SEQ ID NO: 8, 10 đến 12 và vùng ổn định của chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 9 hoặc 13.
8. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể có cấu trúc bốn chuỗi bao gồm hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng.
9. Chế phẩm bao gồm kháng thể theo điểm 1 làm hoạt chất và chất mang.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION HOKKAIDO UNIVERSITY
FUSO PHARMACEUTICAL INDUSTRIES, LTD.

<120> KHÁNG THỂ KHÁNG PD-L1 ĐỂ PHÁT HIỆN PD-L1

<130> FP-233PCT

<150> JP 2017-61389

<151> 2017-03-27

<160> 125

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 1

Lys Ser Ile Ser Lys Tyr

1 5

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 2

Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 3

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ile

1 5

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 4

Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Asn

1 5

<210> 5

<211> 17

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 5

Ala Arg Gly Ile Thr Met Met Val Val Ile Ser His Trp Lys Phe Asp

1 5 10 15

Phe

<210> 6

<211> 127

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 6

Met Arg Val Gln Ile Gln Phe Trp Gly Leu Leu Leu Leu Trp Thr Ser

1 5 10 15

Gly Ile Gln Cys Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Asn Leu Ala

20 25 30

Ala Ser Pro Gly Glu Ser Val Ser Ile Asn Cys Lys Ala Ser Lys Ser

35 40 45

Ile Ser Lys Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Asn

50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser
 65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg
 85 90 95

Asn Leu Glu Pro Glu Asp Phe Gly Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn
 100 105 110

Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 115 120 125

<210> 7

<211> 142

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 7

Met Gly Trp Ile Cys Ile Ile Phe Leu Val Ala Ile Ala Thr Gly Ala
 1 5 10 15

His Ser Gln Val Lys Leu Leu Gln Ser Gly Ala Ala Leu Val Lys Pro
 20 25 30

Gly Asp Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
 35 40 45

Asp Tyr Ile Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu
 50 55 60

Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Asn Asn Tyr Asn Glu
 65 70 75 80

Lys Phe Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr
 85 90 95

Ala Tyr Met Glu Phe Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr
100 105 110

Tyr Cys Ala Arg Gly Ile Thr Met Met Val Val Ile Ser His Trp Lys
115 120 125

Phe Asp Phe Trp Gly Pro Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 8

<211> 107

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 8

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Thr Glu
1 5 10 15

Gln Leu Ala Thr Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Leu Met Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Asp Ile Ser Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Thr Glu Arg
35 40 45

Arg Asp Gly Val Leu Asp Ser Val Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Ser Leu Thr Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Ser His Asn Leu Tyr Thr Cys Glu Val Val His Lys Thr Ser Ser Ser
85 90 95

Pro Val Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

100

105

<210> 9

<211> 322

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 9

Ala Glu Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala

1 5 10 15

Leu Lys Ser Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Ser Ser

35 40 45

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

50 55 60

Thr Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Ser Ser Gln Ala Val

65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys

85 90 95

Ile Val Pro Arg Glu Cys Asn Pro Cys Gly Cys Thr Gly Ser Glu Val

100 105 110

Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Thr Lys Asp Val Leu Thr Ile

115 120 125

Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Gln Asn

130 135 140

Asp Pro Glu Val Arg Phe Ser Trp Phe Ile Asp Asp Val Glu Val His
145 150 155 160

Thr Ala Gln Thr His Ala Pro Glu Lys Gln Ser Asn Ser Thr Leu Arg
165 170 175

Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Val His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys
180 185 190

Thr Phe Lys Cys Lys Val Asn Ser Gly Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu
195 200 205

Lys Ser Ile Ser Lys Pro Glu Gly Thr Pro Arg Gly Pro Gln Val Tyr
210 215 220

Thr Met Ala Pro Pro Lys Glu Glu Met Thr Gln Ser Gln Val Ser Ile
225 230 235 240

Thr Cys Met Val Lys Gly Phe Tyr Pro Pro Asp Ile Tyr Thr Glu Trp
245 250 255

Lys Met Asn Gly Gln Pro Gln Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Pro Pro Thr
260 265 270

Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Asn Val Lys
275 280 285

Lys Glu Thr Trp Gln Gln Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His
290 295 300

Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro
305 310 315 320

Gly Lys

<210> 10

<211> 106

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 10

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Thr Glu Gln
1 5 10 15

Leu Ala Thr Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Leu Met Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Asp Ile Ser Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Thr Glu Arg Arg
35 40 45

Asp Gly Val Leu Asp Ser Val Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Ser Leu Thr Lys Ala Asp Tyr Glu Ser
65 70 75 80

His Asn Leu Tyr Thr Cys Glu Val Val His Lys Thr Ser Ser Ser Pro
85 90 95

Val Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
100 105

<210> 11

<211> 107

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 11

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Thr Glu

1 5 10 15
 Gln Leu Ala Thr Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Leu Met Asn Asn Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Arg Asp Ile Ser Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Thr Glu Arg
 35 40 45
 Arg Asp Gly Val Leu Asp Ser Val Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60
 Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Ser Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 Ser His Asn Leu Tyr Thr Cys Glu Val Val His Lys Thr Ser Ser Ser
 85 90 95
 Pro Val Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 100 105

<210> 12

<211> 104

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 12

Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Met Glu Gln Leu Thr
 1 5 10 15

Ser Gly Gly Ala Thr Val Val Cys Phe Val Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
 20 25 30

Asp Ile Ser Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Gln Arg Asp Gly
 35 40 45

Val Leu Asp Ser Val Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
50 55 60

Met Ser Ser Thr Leu Ser Leu Thr Lys Val Glu Tyr Glu Arg His Asn
65 70 75 80

Leu Tyr Thr Cys Glu Val Val His Lys Thr Ser Ser Ser Pro Val Val
85 90 95

Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
100

<210> 13

<211> 318

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 13

Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu Lys Ser Asn
1 5 10 15

Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro
20 25 30

Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Ser Ser Gly Val His Thr
35 40 45

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

Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Ser Ser Gln Ala Val Thr Cys Asn Val
65 70 75 80

Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg
85 90 95

Glu Cys Asn Pro Cys Gly Cys Thr Gly Ser Glu Val Ser Ser Val Phe
100 105 110

Ile Phe Pro Pro Lys Thr Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro
115 120 125

Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Gln Asn Asp Pro Glu Val
130 135 140

Arg Phe Ser Trp Phe Ile Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr
145 150 155 160

His Ala Pro Glu Lys Gln Ser Asn Ser Thr Leu Arg Ser Val Ser Glu
165 170 175

Leu Pro Ile Val His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Thr Phe Lys Cys
180 185 190

Lys Val Asn Ser Gly Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Ser Ile Ser
195 200 205

Lys Pro Glu Gly Thr Pro Arg Gly Pro Gln Val Tyr Thr Met Ala Pro
210 215 220

Pro Lys Glu Glu Met Thr Gln Ser Gln Val Ser Ile Thr Cys Met Val
225 230 235 240

Lys Gly Phe Tyr Pro Pro Asp Ile Tyr Thr Glu Trp Lys Met Asn Gly
245 250 255

Gln Pro Gln Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Pro Pro Thr Met Asp Thr Asp
260 265 270

Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Asn Val Lys Lys Glu Thr Trp
 275 280 285

Gln Gln Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His
 290 295 300

Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
 305 310 315

<210> 14

<211> 381

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 14

atgagggtcc agattcagtt ttgggggctt cttctgctct ggacatcagg tatacagtgt	60
gatgtccaga tgaccagtc tccatctaata cttgctgcct ctctggaga aagtgtttcc	120
atcaattgca aggcaagtaa gagcattagc aagtatttag cctggatatca acagaaacct	180
gggaaagcaa ataagcttct tatctactct ggggtcaactt tgcaatctgg aactccatcg	240
aggttcagtg gcagtggatc tggtagatc ttactctca ccatcagaaa cctggagcct	300
gaagattttg gactctatta ctgtcaacag cataatgaat acccgctcac gttcggttct	360
gggaccaagc tggagatcaa a	381

<210> 15

<211> 426

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 15

atgggatgga tctgtatcat ctttcttggt gcaatagcta caggtgcca ctcccaggtc	60
aagctgctgc agtctggggc tgcactggtg aagcctgggg actctgtgaa gatgtcttgc	120
aaagcttctg gttatacatt cactgactac attatacact ggggtgaagca gagtcattga	180
aaaagccttg agtggattgg ttatattaat cctgacagtg gtggtaataa ctacaatgaa	240
aagttcaaga gcaaggccac attgactgta gacaaatcca gcagcacagc ctatatggag	300
tttagcagat tgacatctga ggattctgca atctactact gtgcaagagg gattaccatg	360
atggtagtta ttagccactg gaagtttgac ttctggggcc caggaaccat gggtaccgtg	420

tcctca

426

<210> 16

<211> 324

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 16

cgggctgatg ctgcaccaac tgtatctatc ttcccacat ccacggaaca gttagcaact	60
ggaggtgcct cagtcgtgtg cctcatgaac aacttctatc ccagagacat cagtgtaag	120
tggaagattg atggcactga acgacgagat ggtgtcctgg acagtgttac tgatcaggac	180
agcaaagaca gcacgtacag catgagcagc accctctcgt tgaccaaggc tgactatgaa	240
agtcataacc tctatacctg tgagggtgtt cataagacat catcctcacc cgtcgtcaag	300
agcttcaaca ggaatgagtg ttag	324

<210> 17

<211> 969

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 17

gctgaaacaa cagccccatc tgtctatcca ctggctcctg gaactgctct caaaagtaac	60
tccatggtga ccctgggatg cctggtcaag ggctatttcc ctgagccagt caccgtgacc	120
tggaactctg gagccctgtc cagcgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagtctgga	180
ctctacactc tcaccagctc agtgactgta ccctccagca cctgggtccag ccaggccgtc	240
acctgcaacg tagccccacc ggccagcagc accaagggtg acaagaaaat tgtgccaagg	300
gaatgcaatc cttgtggatg tacaggctca gaagtatcat ctgtcttcat cttcccccca	360
aagaccaaag atgtgctcac catcactctg actcctaagg tcacgtgtgt tgtggttagac	420
attagccaga atgatcccga ggtccggttc agctggttta tagatgacgt ggaagtccac	480
acagctcaga ctcatgcccc ggagaagcag tccaacagca ctttacgctc agtcagtga	540
ctccccatcg tgcaccggga ctggctcaat ggcaagacgt tcaaagtaa agtcaacagt	600
ggagcattcc ctgccccat cgagaaaagc atctccaaac ccgaaggcac accacgaggt	660
ccacaggtat acaccatggc gcctcccaag gaagagatga ccagagtcag agtcagtatc	720
acctgcatgg taaaaggctt ctatccccca gacatttata cggagtggaa gatgaacggg	780
cagccacagg aaaactacaa gaacactcca cctacgatgg acacagatgg gagttacttc	840
ctctacagca agctcaatgt aaagaaagaa acatggcagc agggaaacac tttcacgtgt	900

tctgtgctgc atgagggcct gcacaaccac catactgaga agagtctctc ccactctcct 960
ggtaaatga 969

<210> 18

<211> 323

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 18

gggctgatgc tgcaccaact gtatctatct tcccaccatc cacggaacag ttagcaactg 60
gaggtgcctc agtcgtgtgc ctcatgaaca acttctatcc cagagacatc agtgtcaagt 120
ggaagattga tggcactgaa cgacgagatg gtgtcctgga cagtgttact gatcaggaca 180
gcaaagacag cacgtacagc atgagcagca ccctctcggt gaccaaggct gactatgaaa 240
gtcataacct ctatacctgt gaggttggtc ataagacatc atcctcacc gtcgtcaaga 300
gcttcaacag gaatgagtgt tag 323

<210> 19

<211> 324

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 19

cgggctgatg ctgcaccaac tgtatctatc ttcccaccat ccacggaaca gttagcaact 60
ggaggtgcct cagtcgtgtg cctcatgaac aacttctatc ccagagacat cagtgtcaag 120
tggaagattg atggcactga acgacgagat ggtgtcctgg acagtgttac tgatcaggac 180
agcaaagaca gcacgtacag catgagcagc accctctcgt tgtccaaggc tgactatgaa 240
agtcataacc tctatacctg tgagggtggt cataagacat catcctcacc cgtcgtcaag 300
agcttcaaca ggaatgagtg ttag 324

<210> 20

<211> 315

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 20

gccgcaccaa ctgtatccat cttcccacca tccatggaac agttaacatc tggaggtgcc 60
acagtcgtgt gcttcgtgaa caacttctat cccagagaca tcagtgtcaa gtggaagatt 120

gatggcagtg aacaacgaga tgggtgcctg gacagtgtta ctgatcagga cagcaaagac	180
agcacgtaca gcatgagcag caccctctcg ttgaccaagg ttgaatatga aaggcataac	240
ctctatacct gtgaggttgt tcataagaca tcatcctcac ccgtcgtcaa gagcttcaac	300
aggaatgagt gtttag	315

<210> 21

<211> 959

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 21

cagccccctc tgtctatcca ctggctcctg gaactgctct caaaagtaac tccatggtga	60
ccctgggatg cctgggtcaag ggctatattcc ctgagccagt caccgtgacc tggaactctg	120
gagccctgtc cagcgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagtctgga ctctacactc	180
tcaccagctc agtgactgta ccctccagca cctgggtccag ccaggccgtc acctgcaacg	240
tagccccacc ggccagcagc accaagggtg acaagaaaat tgtgccaagg gaatgcaatc	300
cttgtggatg tacaggctca gaagtatcat ctgtcttcat cttccccca aagaccaaag	360
atgtgctcac catcactctg actcctaagg tcacgtgtgt tgtggtagac attagccaga	420
atgatcccga ggtccgggttc agctgggttta tagatgacgt ggaagtccac acagctcaga	480
ctcatgcccc ggagaagcag tccaacagca ctttacgctc agtcagtga ctccccatcg	540
tgcaccggga ctgggtcaat ggcaagacgt tcaaatgcaa agtcaacagt ggagcattcc	600
ctgcccccat cgagaaaagc atctccaaac ccgaaggcac accacgaggt ccacaggtat	660
acaccatggc gcctcccaag gaagagatga cccagagtca agtcagtatc acctgcatgg	720
taaaaggctt ctatccccca gacatttata cggagtggaa gatgaacggg cagccacagg	780
aaaactacaa gaacactcca cctacgatgg acacagatgg gagttacttc ctctacagca	840
agctcaatgt aaagaaagaa acatggcagc agggaaacac tttcacgtgt tctgtgctgc	900
atgagggcct gcacaaccac catactgaga agagtctctc ccactctcct ggtaaata	959

<210> 22

<211> 20

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 22

atgagaatgt ttagtgtctt

20

<210>	23	
<211>	24	
<212>	ADN	
<213>	Bubalus arnee	
<400>	23	
ttatgtctct	tcaaattgta	tatc
		24
<210>	24	
<211>	17	
<212>	ADN	
<213>	Bubalus arnee	
<400>	24	
ttttagacag	aaagtga	
		17
<210>	25	
<211>	20	
<212>	ADN	
<213>	Bubalus arnee	
<400>	25	
gaccagctct	tcttggggaa	
		20
<210>	26	
<211>	26	
<212>	ADN	
<213>	Bubalus arnee	
<400>	26	
gaagatctat	gagaatgttt	agtgtc
		26
<210>	27	
<211>	28	
<212>	ADN	
<213>	Bubalus arnee	
<400>	27	
ggaattctgt	ctcttcaa	tgtatatac
		28

<210> 28

<211> 106

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 28

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 65 70 75 80

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 29

<211> 321

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 29

actgtggctg caccatctgt cttcatcttc ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga 60
 actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg 120

aagggtggata acgccctcca atcgggtaac tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc 180
aaggacagca cctacagcct cagcagcacc ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa 240
cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat cagggcctga gctcgcccggt cacaaagagc 300
ttcaacaggg gagagtgtta g 321

<210> 30

<211> 229

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 30

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Leu Gly Lys
 225

<210> 31

<211> 690

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 31

gagtccaaat atggtccccc atgcccata tgcccagcac ctgagttcct ggggggacca	60
tcagtcttcc tgttcccccc aaaaccaag gacacttctca tgatctcccg gacccttgag	120
gtcacgtgcg tgggtggtgga cgtgagccag gaagaccccg aggtccagtt caactggtac	180
gtggatggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gttcaacagc	240
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag	300
tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccgtcctcca tcgagaaaac catctccaaa	360
gccaaagggc agccccgaga gccacaggtg tacaccctgc ccccatccca ggaggagatg	420
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc	480

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 540
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aggctaaccg tggacaagag caggtggcag 600
gaggggaatg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacacag 660
aagagcctct ccctgtctct gggtaaatga 690

<210> 32

<211> 229

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 32

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Leu Gly Lys
 225

<210> 33

<211> 690

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 33

gagtccaaat atggtcccc gtgcccata tgcccagcac ctgagttcct ggggggacca	60
tcagtcttcc tgttcccccc aaaacccaag gacactctca tgatctcccg gacccttgag	120
gtcacgtgcg tgggtggtgga cgtgagccag gaagaccccg aggtccagtt caactggtac	180
gtggatggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gttcaacagc	240
acgtaccgtg tggtcagcgt cctcacgctc gtgcaccagg actggctgaa cggcaaggag	300
tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccgtcctcca tcgagaaaac catctccaaa	360
gccaaagggc agccccgaga gccacaggtg tacaccctgc ccccatccca ggaggagatg	420
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc	480

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 540
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aggctaaccg tggacaagag caggtggcag 600
gaggggaatg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 660
aagagcctct ccctgtctct gggtaaatga 690

<210> 34

<211> 217

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 34

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln

100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met

115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
 180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 210 215

<210> 35

<211> 654

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 35

gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact 60
 ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac 120
 cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 180
 ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 240
 caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc 300
 tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc 360
 ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag aaccagggtca gcctgacctg cctggtcaaa 420
 ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 480
 tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc 540
 accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag 600
 gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctctgggtaa atga 654

<210> 36

<211> 106

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 36

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln

1 5 10 15

Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr

20 25 30

Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln

35 40 45

Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

50 55 60

Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg

65 70 75 80

His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro

85 90 95

Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

100 105

<210> 37

<211> 321

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 37

gctgatgctg caccaactgt atccatcttc ccaccatcca gtgagcagtt aacatctgga

60

ggtgcctcag tcgtgtgctt cttgaacaac ttctacccca aagacatcaa tgtcaagtgg

120

aagattgatg gcagtgaacg acaaaatggc gtcctgaaca gttggactga tcaggacagc 180
aaagacagca cctacagcat gagcagcacc ctcacgttga ccaaggacga gtatgaacga 240
cataacagct atacctgtga ggccactcac aagacatcaa cttcacccat tgtcaagagc 300
ttcaacagga atgagtgtta g 321

<210> 38

<211> 106

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 38

Gly Gln Pro Lys Ser Ser Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Glu Thr Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Thr Ile Thr Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Val Val Thr Val Asp Trp Lys Val Asp Gly Thr Pro
35 40 45

Val Thr Gln Gly Met Glu Thr Thr Gln Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Met Ala Ser Ser Tyr Leu Thr Leu Thr Ala Arg Ala Trp Glu
65 70 75 80

Arg His Ser Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly His Thr Val
85 90 95

Glu Lys Ser Leu Ser Arg Ala Asp Cys Ser
100 105

<210> 39

<211> 321

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 39

```

ggccagccca agtcttcgcc atcagtcacc ctgtttccac cttcctctga agagctcgag      60
actaacaagg ccacactggg gtgtacgata actgatttct acccaggtgt ggtgacagtg      120
gactggaagg tagatggtac ccctgtcact cagggtatgg agacaaccca gccttcacaa      180
cagagcaaca acaagtacat ggctagcagc tacctgaccc tgacagcaag agcatgggaa      240
aggcatagca gttacagctg ccaggtcact catgaaggta acactgtgga gaagagtttg      300
tcccgtgctg actgttccta g                                     321

```

<210> 40

<211> 105

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 40

```

Gly Gln Pro Lys Ser Thr Pro Thr Leu Thr Val Phe Pro Pro Ser Ser
1           5           10          15

```

```

Glu Glu Leu Lys Glu Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asn
          20          25          30

```

```

Phe Ser Pro Ser Gly Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asn Gly Thr Pro
          35          40          45

```

```

Ile Thr Gln Gly Val Asp Thr Ser Asn Pro Thr Lys Glu Gly Asn Lys
          50          55          60

```

```

Phe Met Ala Ser Ser Phe Leu His Leu Thr Ser Asp Gln Trp Arg Ser
65           70           75          80

```

```

His Asn Ser Phe Thr Cys Gln Val Thr His Glu Gly Asp Thr Val Glu
          85          90          95

```

```

Lys Ser Leu Ser Pro Ala Glu Cys Leu
          100          105

```

<210> 41

<211> 318

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 41

```

ggtcagccca agtccactcc cactctcacc gtgtttccac cttcctctga ggagctcaag      60
gaaaacaaag ccacactggg gtgtctgatt tccaactttt ccccgagtgg tgtgacagtg      120
gcctggaagg caaatggtac acctatcacc cagggtgtgg acacttcaaa tcccacaaaa      180
gagggcaaca agttcatggc cagcagcttc ctacatttga catcggacca gtggagatct      240
cacaacagtt ttacctgtca agttacacat gaaggggaca ctgtggagaa gagtctgtct      300
cctgcagaat gtctctaa                                     318

```

<210> 42

<211> 105

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 42

```

Gly Gln Pro Lys Ser Thr Pro Thr Leu Thr Met Phe Pro Pro Ser Pro
1           5           10          15

```

```

Glu Glu Leu Gln Glu Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asn
          20          25          30

```

```

Phe Ser Pro Ser Gly Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asn Gly Thr Pro
          35          40          45

```

```

Ile Thr Gln Gly Val Asp Thr Ser Asn Pro Thr Lys Glu Asp Asn Lys
          50          55          60

```

```

Tyr Met Ala Ser Ser Phe Leu His Leu Thr Ser Asp Gln Trp Arg Ser
65           70           75           80

```

```

His Asn Ser Phe Thr Cys Gln Val Thr His Glu Gly Asp Thr Val Glu

```


85

90

95

Lys Ser Leu Ser Pro Ala Glu Cys Leu

100

105

<210> 43

<211> 318

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 43

```

ggtcagccca agtcactcc cacactcacc atgtttccac cttcccctga ggagctccag      60
gaaaacaaag ccacactcgt gtgtctgatt tccaattttt cccaagtgg tgtgacagtg      120
gcctggaagg caaatggtac acctatcacc caggggtgtgg acacttcaaa tcccacaaa      180
gaggacaaca agtacatggc cagcagcttc ttacatttga catcggacca gtggagatct      240
cacaacagtt ttacctgcca agttacacat gaaggggaca ctgtggagaa gagtctgtct      300
cctgcagaat gtctctaa                                     318

```

<210> 44

<211> 324

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 44

```

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
1           5           10          15

```

```

Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
20          25          30

```

```

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
35          40          45

```

```

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
50          55          60

```

Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Pro Arg Pro Ser Glu Thr Val
 65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95

Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro
 100 105 110

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

Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser
 130 135 140

Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu
 145 150 155 160

Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 165 170 175

Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn
 180 185 190

Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro
 195 200 205

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln
 210 215 220

Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val
 225 230 235 240

Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val

245 250 255
 Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln
 260 265 270
 Pro Ile Met Asn Thr Asn Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn
 275 280 285
 Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val
 290 295 300
 Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His
 305 310 315 320
 Ser Pro Gly Lys

<210> 45

<211> 975

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 45

gccaaaacga ccccccatc tgtctatcca ctggcccctg gatctgctgc ccaaactaac 60
 tccatggtga ccctgggatg cctggtcaag ggctatttcc ctgagccagt gacagtgacc 120
 tggaactctg gatccctgtc cagcgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct ggagtctgac 180
 ctctacactc tgagcagctc agtgactgtc ccctccagcc ctcggccag cgagaccgtc 240
 acctgcaacg ttgccacccc ggccagcagc accaagggtgg acaagaaaat tgtgcccagg 300
 gattgtgggtt gtaagccttg catatgtaca gtcccagaag tatcatctgt cttcatcttc 360
 ccccaaagc ccaaggatgt gctcaccatt actctgactc ctaagggtcac gtgtgtttgtg 420
 gtagacatca gcaaggatga tcccagggtc cagttcagct ggttttaga tgatgtggag 480
 gtgcacacag ctgagacgca accccgggag gagcagttca acagcacttt ccgctcagtc 540
 agtgaacttc ccatcatgca ccaggactgg ctcaatggca aggagttcaa atgcagggtc 600
 aacagtgcag ctttccctgc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa aggcagaccg 660
 aaggctccac aggtgtacac cattccacct cccaaggagc agatggccaa ggataaagtc 720

agtctgacct gcatgataac agacttcttc cctgaagaca ttactgtgga gtggcagtgg 780
 aatgggcagc cagcggagaa ctacaagaac actcagccca tcatgaacac gaatggctct 840
 tacttcgtct acagcaagct caatgtgcag aagagcaact gggaggcagg aaatactttc 900
 acctgctctg tgttacatga gggcctgcac aaccaccata ctgagaagag cctctcccac 960
 tctcctggta aatga 975

<210> 46

<211> 324

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 46

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala
 1 5 10 15

Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val
 65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95

Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro
 100 105 110

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

Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser
130 135 140

Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu
145 150 155 160

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

Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn
180 185 190

Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro
195 200 205

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln
210 215 220

Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val
225 230 235 240

Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val
245 250 255

Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln
260 265 270

Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn
275 280 285

Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val
290 295 300

Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His
 305 310 315 320

Ser Pro Gly Lys

<210> 47

<211> 975

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 47

```

gccaaaacga ccccccatc tgtctatcca ctggcccctg gatctgctgc ccaaactaac      60
tccatgggtga ccctgggatg cctgggtcaag ggctatttcc ctgagccagt gacagtgacc    120
tggaactctg gatccctgtc cagcgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagtctgac    180
ctctacactc tgagcagctc agtgactgtc ccctccagca cctggcccag ccagaccgtc    240
acctgcaacg ttgcccaccc ggccagcagc accaaggtgg acaagaaaat tgtgcccagg    300
gattgtgggtt gtaagccttg catatgtaca gtcccagaag tatcatctgt cttcatcttc    360
cccccaaagc ccaaggatgt gctcaccatt actctgactc ctaaggtcac gtgtgtttgtg    420
gtagacatca gcaaggatga tcccagggtc cagttcagct ggttttaga tgatgtggag    480
gtgcacacag ctgagacgaa accccgggag gagcagatca acagcacttt ccgttcagtc    540
agtgaacttc ccatcatgca ccaggactgg ctcaatggca aggagttcaa atgcagggtc    600
aacagtgcag ctttcctgc ccccatcgag aaaaccatct ccaaaaccaa aggcagaccg    660
aaggctccac aggtgtacac cattccacct cccaaggagc agatggccaa ggataaagtc    720
agtctgacct gcatgataac aaacttcttc cctgaagaca ttactgtgga gtggcagtg    780
aatgggcagc cagcggagaa ctacaagaac actcagccca tcatggacac agatggctct    840
tacttcgtct acagcaagct caatgtgcag aagagcaact gggaggcagg aaatactttc    900
acctgctctg tgttacatga gggcctgcac aaccaccata ctgagaagag cctctccac    960
tctcctggta aatga                                         975
  
```

<210> 48

<211> 330

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 48

Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
85 90 95

Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
145 150 155 160

Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
165 170 175

Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln

	180	185	190
His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn			
195	200	205	
Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly			
210	215	220	
Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu			
225	230	235	240
Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met			
245	250	255	
Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu			
260	265	270	
Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe			
275	280	285	
Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn			
290	295	300	
Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr			
305	310	315	320
Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys			
325	330		

<210> 49

<211> 993

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 49


```

gccaaaacaa cagccccatc ggtctatcca ctggcccctg tgtgtggaga tacaactggc      60
tcctcggtaga ctctaggatg cctgggtcaag ggttatttcc ctgagccagt gaccttgacc      120
tggaactctg gatccctgtc cagtgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagtctgac      180
ctctacaccc tcagcagctc agtgactgta acctcgagca cctggcccag ccagtccatc      240
acctgcaatg tggcccaccc ggcaagcagc accaaggtgg acaagaaaat tgagcccaga      300
gggcccacaa tcaagccctg tcctccatgc aaatgcccag cacctaacct cttgggtgga      360
ccatccgtct tcattttccc tccaaagatc aaggatgtac tcatgatctc cctgagcccc      420
atagtacat gtgtgggtgt ggatgtgagc gaggatgacc cagatgtcca gatcagctgg      480
tttgtgaaca acgtggaagt acacacagct cagacacaaa cccatagaga ggattacaac      540
agtactctcc ggggtggtcag tgccctcccc atccagcacc aggactggat gagtggcaag      600
gagttcaaat gcaaggtcaa caacaaagac ctccagcgc ccatcgagag aaccatctca      660
aaacccaaag ggtcagtaag agctccacag gtatatgtct tgcctccacc agaagaagag      720
atgactaaga aacaggtcac tctgacctgc atggtcacag acttcatgcc tgaagacatt      780
tacgtggagt ggaccaacaa cgggaaaaaca gagctaaact acaagaacac tgaaccagtc      840
ctggactctg atggttctta cttcatgtac agcaagctga gagtggaaaa gaagaactgg      900
gtggaaagaa atagctactc ctgttcagtgtgtccacgagg gtctgcacaa tcaccacacg      960
actaagagct tctcccggac tccgggtaaa tga      993

```

<210> 50

<211> 330

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 50

Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly

1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
85 90 95

Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Met Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
145 150 155 160

Phe Val Asn Asn Val Glu Val Leu Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
165 170 175

Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln
180 185 190

His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly
210 215 220

Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met

245

250

255

Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu

260

265

270

Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe

275

280

285

Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn

290

295

300

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr

305

310

315

320

Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

325

330

<210> 51

<211> 993

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 51

```

gccaaaacaa cagccccatc ggtctatcca ctggcccctg tgtgtggaga tacaactggc      60
tcctcggatga ctctaggatg cctgggtcaag ggttattttcc ctgagccagt gaccttgacc      120
tggaactctg gatccctgtc cagtgggtgtg cacaccttcc cagctgtcct gcagtctgac      180
ctctacaccc tcagcagctc agtgactgta acctcgagca cctggcccag ccagtccatc      240
acctgcaatg tggccccacc ggcaagcagc accaaggtgg acaagaaaat tgagcccaga      300
gggcccacaa tcaagccctg tcctccatgc aaatgcccag cacctaacct cttgggtgga      360
ccatccgtct tcattttccc tcaaagatc aaggatgtac tcatgatctc cctgagtgcc      420
atgggtcacat gtgtgggtgg ggatgtgagc gaggatgacc cagatgtcca gatcagctgg      480
ttcgtgaaca acgtggaagt actcacagct cagacacaaa cccatagaga ggattacaac      540
agtactctcc ggggtggtcag tgccctcccc atccagcacc aggactggat gaggggcaag      600
gagttcaaat gcaaggtcaa caacaaagcc ctcccagcgc ccatcgagag aaccatctca      660

```

aaacccaaag ggtcagtaag agctccacag gtatatgtct tgcctccacc agaagaagag 720
 atgactaaga aacaggtcac tctgacctgc atggtcacag acttcatgcc tgaagacatt 780
 tacgtggagt ggaccaacaa cgggaaaaca gagctaaact acaagaacac tgaaccagtc 840
 ctggactctg atggttctta cttcatgtac agcaagctga gagtggaata gaagaactgg 900
 gtggaaagaa atagctactc ctgttcagtg gtccacgagg gtctgcacaa tcaccacacg 960
 actaagagct tctcccggac tccgggtaaa tga 993

<210> 52

<211> 336

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 52

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Cys Gly
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Ser Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 35 40 45

Ser Val His Thr Phe Pro Ala Leu Leu Gln Ser Gly Leu Tyr Thr Met
 50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val
 65 70 75 80

Thr Cys Ser Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Thr Val Asp Lys Lys
 85 90 95

Leu Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn Pro Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Lys Glu Cys His Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Glu Gly Gly Pro Ser

115	120	125
Val Phe Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu		
130	135	140
Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro		
145	150	155
160		
Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala		
165	170	175
Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Ile Arg Val Val		
180	185	190
Ser Thr Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe		
195	200	205
Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr		
210	215	220
Ile Ser Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Ile Leu		
225	230	235
240		
Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys Asp Val Ser Leu Thr Cys		
245	250	255
Leu Val Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile Ser Val Glu Trp Thr Ser		
260	265	270
Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp Thr Ala Pro Val Leu Asp		
275	280	285
Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys Leu Asn Met Lys Thr Ser		
290	295	300

Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys Asn Val Arg His Glu Gly
 305 310 315 320

Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
 325 330 335

<210> 53

<211> 1011

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 53

```

gccaaaacaa ccccccatc agtctatcca ctggcccctg ggtgtggaga tacaactggt      60
tcctccgtga ctctgggatg cctgggtcaag ggctacttcc ctgagtcagt gactgtgact      120
tggaactctg gatccctgtc cagcagtggtg cacaccttcc cagctctcct gcagtctgga      180
ctctacacta tgagcagctc agtgactgtc ccctccagca cttggccaag tcagaccgtc      240
acctgcagcg ttgtcacccc agccagcagc accacggtgg acaaaaaact tgagcccagc      300
gggcccattt caacaatcaa cccctgtcct ccatgcaagg agtgtcacia atgccagct      360
cctaacctcg aggggtggacc atccgtcttc atcttccttc caaatatcaa ggatgtactc      420
atgatctccc tgacacccaa ggtcacgtgt gtgggtgggtg atgtgagcga ggatgaccca      480
gacgtccaga tcagctgggtt tgtgaacaac gtggaagtac acacagctca gacacaaacc      540
catagagagg attacaacag tactatccgg gtgggtcagca ccctcccat ccagcaccag      600
gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc aagggtcaaca acaaagacct cccatcacc      660
atcgagagaa ccatctcaaa aattaaaggg ctagtcagag ctccacaagt atacatcttg      720
ccgccaccag cagagcagtt gtccaggaaa gatgtcagtc tcacttgcct ggtcgtgggc      780
ttcaaccctg gagacatcag tgtggagtgg accagcaatg ggcatacaga ggagaactac      840
aaggacaccg caccagtcct agactctgac ggttcttact tcatatatag caagctcaat      900
atgaaaacaa gcaagtggga gaaaacagat tccttctcat gcaacgtgag acacgagggt      960
ctgaaaaatt actacctgaa gaagaccatc tcccgggtctc cgggtaaatg a      1011

```

<210> 54

<211> 336

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 54

Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Cys Gly
 1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Ser Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 35 40 45

Ser Val His Thr Phe Pro Ala Leu Leu Gln Ser Gly Leu Tyr Thr Met
 50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val
 65 70 75 80

Thr Cys Ser Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Thr Val Asp Lys Lys
 85 90 95

Leu Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn Pro Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Lys Glu Cys His Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Glu Gly Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
 130 135 140

Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
 145 150 155 160

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
 165 170 175

Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Ile Arg Val Val
 180 185 190

Ser Thr Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
 195 200 205

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

Ile Ser Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 225 230 235 240

Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys Asp Val Ser Leu Thr Cys
 245 250 255

Leu Val Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile Ser Val Glu Trp Thr Ser
 260 265 270

Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp Thr Ala Pro Val Leu Asp
 275 280 285

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys Leu Asn Met Lys Thr Ser
 290 295 300

Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys Asn Val Arg His Glu Gly
 305 310 315 320

Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
 325 330 335

<210> 55

<211> 1011

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 55

```

gccaaaacaa ccccccatc agtctatcca ctggcccctg ggtgtggaga tacaactggt      60
tcctccgtga cctctgggtg cctgggtcaag ggggtacttcc ctgagccagt gactgtgact      120
tggaactctg gatccctgtc cagcagtgtg cacaccttcc cagctctcct gcagtctgga      180
ctctacacta tgagcagctc agtgactgtc ccctccagca cctggccaag tcagaccgtc      240
acctgcagcg ttgctcacc cagccagcagc accacgggtgg acaaaaaact tgagcccagc      300
gggcccattt caacaatcaa cccctgtcct ccatgcaagg agtgtcacia atgccagct      360
cctaacctcg aggggtggacc atccgtcttc atcttccctc caaatatcaa ggatgtactc      420
atgatctccc tgacacccaa ggtcacgtgt gtgggtgggtg atgtgagcga ggatgaccca      480
gacgtccaga tcagctgggtt tgtgaacaac gtggaagtac acacagctca gacacaaacc      540
catagagagg attacaacag tactatccgg gtggtcagca ccctcccat ccagcaccag      600
gactggatga gtggcaagga gttcaaatgc aaggtgaaca acaaagacct cccatcacc      660
atcgagagaa ccatctcaaa aattaaagg ctagtcagag ctccacaagt atacactttg      720
ccgccaccag cagagcagtt gtccaggaaa gatgtcagtc tcacttgcct ggtcgtgggc      780
ttcaaccctg gagacatcag tgtggagtgg accagcaatg ggcatacaga ggagaactac      840
aaggacaccg caccagttct tgactctgac ggttcttact tcatatatag caagctcaat      900
atgaaaacaa gcaagtggga gaaaacagat tccttctcat gcaacgtgag acacgagggt      960
ctgaaaaatt actacctgaa gaagaccatc tcccgggtctc cgggtaaattg a      1011

```

<210> 56

<211> 335

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 56

Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly

1 5 10 15

Gly Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Asn Thr Trp Pro Ser Gln Thr Ile
65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
 85 90 95

Ile Glu Pro Arg Val Pro Ile Thr Gln Asn Pro Cys Pro Pro Leu Lys
 100 105 110

Glu Cys Pro Pro Cys Ala Ala Pro Asp Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
 130 135 140

Pro Met Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp
145 150 155 160

Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln
 165 170 175

Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser
 180 185 190

Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys
 195 200 205

Cys Lys Val Asn Asn Arg Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 210 215 220

Ser Lys Pro Arg Gly Pro Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
225 230 235 240

Pro Pro Ala Glu Glu Met Thr Lys Lys Glu Phe Ser Leu Thr Cys Met
 245 250 255

Ile Thr Gly Phe Leu Pro Ala Glu Ile Ala Val Asp Trp Thr Ser Asn
 260 265 270

Gly Arg Thr Glu Gln Asn Tyr Lys Asn Thr Ala Thr Val Leu Asp Ser
 275 280 285

Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Gln Lys Ser Thr
 290 295 300

Trp Glu Arg Gly Ser Leu Phe Ala Cys Ser Val Val His Glu Val Leu
 305 310 315 320

His Asn His Leu Thr Thr Lys Thr Ile Ser Arg Ser Leu Gly Lys
 325 330 335

<210> 57

<211> 1008

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 57

```

gccaaaacaa cagccccatc ggtctatcca ctggcccctg tgtgtggagg tacaactggc      60
tcctcgggtga ctctaggatg cctgggtcaag ggttattttcc ctgagccagt gaccttgacc      120
tggaactctg gatccctgtc cagtgggtgtg cacaccttcc cagctctcct gcagtctggc      180
ctctacacc tcagcagctc agtgactgta acctcgaaca cctggcccag ccagaccatc      240
acctgcaatg tggcccaccc ggcaagcagc accaaagtgg acaagaaaat tgagcccaga      300
gtgcccataa cacagaaccc ctgtcctcca ctcaaagagt gtcccccattg cgcagctcca      360
gacctcttgg gtggaccatc cgtcttcatc ttccctccaa agatcaagga tgtactcatg      420
atctccctga gcccattggt cacatgtgtg gtgggtggatg tgagcgagga tgaccagac      480
gtccagatca gctggtttgt gaacaacgtg gaagtacaca cagctcagac acaaaccat      540
agagaggatt acaacagtac tctccgggtg gtcagtgcc tccccatcca gcaccaggac      600

```

```

tggatgagtg gcaaggagtt caaatgcaag gtcaacaaca gagccctccc atccccatc 660
gagaaaacca tctcaaaacc cagagggcca gtaagagctc cacaggtata tgtcttgcct 720
ccaccagcag aagagatgac taagaaagag ttcagtctga cctgcatgat cacaggcttc 780
ttacctgccg aaattgctgt ggactggacc agcaatgggc gtacagagca aaactacaag 840
aacaccgcaa cagtcctgga ctctgatggt tcttacttca tgtacagcaa gctcagagta 900
caaaagagca cttgggaaag aggaagtctt ttgcctgct cagtgggtcca cgaggtgctg 960
cacaatcacc ttacgactaa gaccatctcc cggctctctgg gtaaata 1008

```

<210> 58

<211> 335

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 58

Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly

1 5 10 15

Gly Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Asn Thr Trp Pro Ser Gln Thr Ile

65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys

85 90 95

Ile Glu Ser Arg Arg Pro Ile Pro Pro Asn Ser Cys Pro Pro Cys Lys

100 105 110

Glu Cys Ser Ile Phe Pro Ala Pro Asp Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
130 135 140

Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp
145 150 155 160

Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln
165 170 175

Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser
180 185 190

Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys
195 200 205

Cys Lys Val Asn Asn Arg Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile
210 215 220

Ser Lys Pro Arg Gly Pro Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
225 230 235 240

Pro Pro Ala Glu Glu Met Thr Lys Lys Glu Phe Ser Leu Thr Cys Met
245 250 255

Ile Thr Asp Phe Leu Pro Ala Glu Ile Ala Val Asp Trp Thr Ser Asn
260 265 270

Gly His Lys Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Ala Pro Val Leu Asp Thr
275 280 285

Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Gln Lys Ser Thr

290	295	300	
Trp Glu Lys Gly Ser Leu Phe Ala Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu			
305	310	315	320
His Asn His His Thr Thr Lys Thr Ile Ser Arg Ser Leu Gly Lys			
	325	330	335

<210> 59

<211> 1008

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 59

```

gccaaaacaa cagccccatc ggtctatcca ctggcccctg tgtgtggagg tacaactggc      60
tcctcggatga ctctaggatg cctgggtcaag ggttatttcc ctgagccagt gaccttgacc      120
tggaactctg gatccctgtc cagtgggtgtg cacaccttcc cagctctcct gcagtctggc      180
ctctacaccc tcagcagctc agtgactgta acctcgaaca cctggcccag ccagaccatc      240
acctgcaatg tggcccaccc ggcaagcagc accaaagtgg acaagaaaat tgaatccaga      300
aggcccatat caccacaactc ctgtcctcca tgcaaagagt gttccatatt cccagctcct      360
gacctcttgg gtggaccatc cgtcttcatc ttccctccaa agatcaagga tgtactcatg      420
atctccctga gccccatagt cacatgtgtg gtgggtggatg tgagcgagga tgaccagat      480
gtccagatca gctggtttgt gaacaacgtg gaagtacaca cagctcagac acaaaccat      540
agagaggatt acaacagtac tctccgggtg gtcagtgtccc tccccatcca gcaccaggac      600
tggtatgagt gcaaggagtt caaatgcaag gtcaacaaca gagccctccc atccccatc      660
gagaaaacca tctcaaaacc cagagggcca gtaagagctc cacaggtata tgtcttgcct      720
ccaccagcag aagagatgac taagaaagag ttcagtctga cctgcatgat cacagacttc      780
ttacctgccg aaattgctgt ggactggacc agcaatgggc ataaagagct gaactacaag      840
aacaccgcac cagtcctgga cactgatggt tcttacttca tgtacagcaa gctcagagtg      900
caaaagagca cttgggaaaa aggaagtctt ttgcctgtct cagtgggtcca cgagggtctg      960
cacaatcacc atacgactaa gaccatctcc cggtctctgg gtaaatga      1008

```

<210> 60

<211> 335

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 60

Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly

1 5 10 15

Gly Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser

35 40 45

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

50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Asn Thr Trp Pro Ser Gln Thr Ile

65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys

85 90 95

Ile Glu Pro Arg Val Pro Ile Thr Gln Asn Pro Cys Pro Pro Leu Lys

100 105 110

Glu Cys Pro Pro Cys Ala Ala Pro Asp Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser

130 135 140

Pro Met Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp

145 150 155 160

Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln

165 170 175

Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser
180 185 190

Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys
195 200 205

Cys Lys Val Asn Asn Arg Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile
210 215 220

Ser Lys Pro Arg Gly Pro Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
225 230 235 240

Pro Pro Ala Glu Glu Met Thr Lys Lys Glu Phe Ser Leu Thr Cys Met
245 250 255

Ile Thr Gly Phe Leu Pro Ala Glu Ile Ala Val Asp Trp Thr Ser Asn
260 265 270

Gly Arg Thr Glu Gln Asn Tyr Lys Asn Thr Ala Thr Val Leu Asp Ser
275 280 285

Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Gln Lys Ser Thr
290 295 300

Trp Glu Arg Gly Ser Leu Phe Ala Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu
305 310 315 320

His Asn His Leu Thr Thr Lys Thr Ile Ser Arg Ser Leu Gly Lys
325 330 335

<210> 61

<211> 1008

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 61

```

gccaaaacaa cagccccatc ggtctatcca ctggcccctg tgtgtggagg tacaactggc      60
tcctcggtga ctctaggatg cctggtcaag ggttatttcc ctgagccagt gaccttgacc      120
tggaactctg gatccctgtc cagtgggtgtg cacaccttcc cagctctcct gcagtctggc      180
ctctacaccc tcagcagctc agtgactgta acctcgaaca cctggcccag ccagaccatc      240
acctgcaatg tggcccaccc ggcaagcagc accaaagtgg acaagaaaat tgagcccaga      300
gtgcccataa cacagaaccc ctgtcctcca ctcaaagagt gtcccccattg cgcagctcca      360
gacctcttgg gtggaccatc cgtcttcatc ttccctccaa agatcaagga tgtactcatg      420
atctccctga gcccattggt cacatgtgtg gtggtggatg tgagcgagga tgaccagac      480
gtccagatca gctggtttgt gaacaacgtg gaagtacaca cagctcagac acaaaccat      540
agagaggatt acaacagtac tctccgggtg gtcagtgtcc tcccatcca gcaccaggac      600
tggtatgagt gcaaggagtt caaatgcaag gtcaacaaca gagccctccc atccccatc      660
gagaaaacca tctcaaaacc cagagggcca gtaagagctc cacaggataa tgtcttgcc      720
ccaccagcag aagagatgac taagaaagag ttcagtctga cctgcatgat cacaggcttc      780
ttacctgccg aaattgctgt ggactggacc agcaatgggc gtacagagca aaactacaag      840
aacaccgcaa cagtcttggc ctctgatggt tcttacttca tgtacagcaa gctcagagta      900
caaaagagca cttgggaaag aggaagtctt ttcgcctgct cagtgggtcca cgagggtctg      960
cacaatcacc ttacgactaa gaccatctcc cggctctctg gtaaatga      1008

```

<210> 62

<211> 330

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 62

```

Ala Thr Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Val Pro Gly Cys Ser
1           5           10          15

```

```

Asp Thr Ser Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
          20          25          30

```

```

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Lys Trp Asn Tyr Gly Ala Leu Ser Ser
          35          40          45

```

Gly Val Arg Thr Val Ser Ser Val Leu Gln Ser Gly Phe Tyr Ser Leu
50 55 60

Ser Ser Leu Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val
65 70 75 80

Ile Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Lys Thr Glu Leu Ile Lys Arg
85 90 95

Ile Glu Pro Arg Ile Pro Lys Pro Ser Thr Pro Pro Gly Ser Ser Cys
100 105 110

Pro Pro Gly Asn Ile Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Ala Leu Met Ile Ser Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val His Val Ser Trp
145 150 155 160

Phe Val Asp Asn Lys Glu Val His Thr Ala Trp Thr Gln Pro Arg Glu
165 170 175

Ala Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln
180 185 190

His Gln Asp Trp Met Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly
210 215 220

Arg Ala Gln Thr Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Arg Glu Gln

<210>	63	
<211>	993	
<212>	ADN	
<213>	Bubalus arnee	
<400>	63	
gctacaacaa cagccccatc tgtctatccc ttggtccttg gctgcagtga cacatctgga		60
tcctcggatga cactgggatg ccttgtcaaa ggctacttcc ctgagccggg aactgtaaaa		120
tggaactatg gagccctgtc cagcgggtgtg cgcacagtct catctgtcct gcagtctggg		180
ttctattccc tcagcagctt ggtgactgta ccctccagca cctggcccag ccagactgtc		240
atctgcaacg tagcccaccc agccagcaag actgagttga tcaagagaat cgagcctaga		300
atacccaagc ccagtacccc cccaggttct tcatgcccac ctggtaacat cttgggtgga		360
ccatccgtct tcatcttccc cccaaagccc aaggatgcac tcatgatctc cctaaccccc		420
aaggttacgt gtgtgggtgg ggatgtgagc gaggatgacc cagatgtcca tgtcagctgg		480
tttgtggaca acaaagaagt acacacagcc tggacacagc cccgtgaagc tcagtacaac		540

```

agtaccttcc gagtggtcag tgccctcccc atccagcacc aggactggat gaggggcaag      600
gagttcaaat gcaagggtcaa caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagag aaccatctca      660
aaacccaaag gaagagccca gacacctcaa gtatacacca tacccccacc tcgtgaacaa      720
atgtccaaga agaagggttag tctgacctgc ctggtcacca acttcttctc tgaagccatc      780
agtgtggagt gggaaaggaa cggagaactg gagcaggatt acaagaacac tccacccatc      840
ctggactcag atgggaccta cttcctctac agcaagctca ctgtggatac agacagttgg      900
ttgcaaggag aaattttttac ctgctccgtg gtgcatgagg ctctccataa ccaccacaca      960
cagaagaacc tgtctcgctc ccctggtaaa tga                                  993

```

<210> 64

<211> 105

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 64

```

Gln Pro Lys Ser Pro Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Thr Glu
1              5              10              15

```

```

Glu Leu Asn Gly Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
          20              25              30

```

```

Tyr Pro Gly Ser Val Thr Val Val Trp Lys Ala Asp Gly Ser Thr Ile
          35              40              45

```

```

Thr Arg Asn Val Glu Thr Thr Arg Ala Ser Lys Gln Ser Asn Ser Lys
          50              55              60

```

```

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Ser Ser Asp Trp Lys Ser
65              70              75              80

```

```

Lys Gly Ser Tyr Ser Cys Glu Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Thr
          85              90              95

```

```

Lys Thr Val Lys Pro Ser Glu Cys Ser
          100             105

```

<210> 65

<211> 318

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 65

```

cagcccaagt cccaccctc ggtcacctg ttccgcct ccacggagga gctcaacggc      60
aacaaggcca ccctggtgtg tctcatcagc gacttctacc cgggtagcgt gaccgtggtc    120
tggaaggcag acggcagcac catcaccgc aacgtggaga ccaccgggc ctccaaacag      180
agcaacagca agtacgcggc cagcagctac ctgagcctga cgagcagcga ctggaaatcg    240
aaaggcagtt acagctgcga ggtcacgcac gaggggagca ccgtgacgaa gacagtgaag    300
ccctcagagt gttcttag                                     318

```

<210> 66

<211> 329

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 66

```

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Tyr Pro Leu Ser Ser Cys Cys Gly
1           5           10           15

```

```

Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr
          20           25           30

```

```

Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Lys Ser
          35           40           45

```

```

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

```

```

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Gly Ser Thr Ser Gly Gln Thr Phe
65           70           75           80

```

```

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Ala

```

85 90 95
Val Asp Pro Thr Cys Lys Pro Ser Pro Cys Asp Cys Cys Pro Pro Pro
100 105 110
Glu Leu Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Gly His Asp Asp Pro Glu Val Lys Phe Ser Trp Phe Val Asp
145 150 155 160
Asp Val Glu Val Asn Thr Ala Thr Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Ala Leu Arg Ile Gln His Gln Asp
180 185 190
Trp Thr Gly Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Glu Gly Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Val Arg Thr Ile Ser Arg Thr Lys Gly Pro Ala Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Ala Pro Pro Gln Glu Glu Leu Ser Lys
225 230 235 240
Ser Thr Val Ser Leu Thr Cys Met Val Thr Ser Phe Tyr Pro Asp Tyr
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Gln Arg Asn Gly Gln Pro Glu Ser Glu Asp Lys
260 265 270

Tyr Gly Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ala Asp Ser Ser Tyr Phe Leu
 275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Arg Val Asp Arg Asn Ser Trp Gln Glu Gly Asp Thr
 290 295 300

Tyr Thr Cys Val Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 305 310 315 320

Lys Ser Thr Ser Lys Ser Ala Gly Lys
 325

<210> 67

<211> 990

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 67

gcctccacca cagccccgaa agtctaccct ctgagttctt gctgcgggga caagtccagc	60
tccaccgtga ccctgggctg cctggtctcc agctacatgc ccgagccggt gaccgtgacc	120
tggaactcgg gtgccctgaa gagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct tcagtcctcc	180
gggctgtact ctctcagcag catggtgacc gtgcccggca gcacctcagg acagaccttc	240
acctgcaacg tagccccacc ggccagcagc accaagggtgg acaaggctgt tgatcccaca	300
tgcaaaccat caccctgtga ctgttgccca cccctgagc tccccggagg accctctgtc	360
ttcatcttcc caccgaaacc caaggacacc ctacacatct cgggaacgcc cgaggtcacg	420
tgtgtggtgg tggacgtggg ccacgatgac ccgaggtga agttctcctg gttcgtggac	480
gacgtggagg taaacacagc cacgacgaag ccgagagagg agcagttcaa cagcacctac	540
cgcgtggtca gcgccctgcg catccagcac caggactgga ctggaggaaa ggagttcaag	600
tgcaagggtcc acaacgaagg cctcccggcc cccatcgtga ggaccatctc caggacccaa	660
gggcccggccc gggagccgca ggtgtatgtc ctggccccac cccaggaaga gctcagcaaa	720
agcacggtca gcctcacctg catggtcacc agcttctacc cagactacat cgccgtggag	780
tggcagagaa acgggcagcc tgagtcggag gacaagtacg gcacgacccc gcccagctg	840
gacgccgaca gctcctactt cctgtacagc aagctcaggg tggacaggaa cagctggcag	900
gaaggagaca cctacacgtg tgtggtgatg cagaggccc tgcacacatca ctacacgcag	960

aagtcacact ctaagtctgc gggtaaata

990

<210> 68

<211> 329

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 68

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Tyr Pro Leu Ser Ser Cys Cys Gly

1 5 10 15

Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Lys Ser

35 40 45

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

50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Gly Ser Thr Ser Gly Gln Thr Phe

65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Ala

85 90 95

Val Asp Pro Thr Cys Lys Pro Ser Pro Cys Asp Cys Cys Pro Pro Pro

100 105 110

Glu Leu Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Gly His Asp Asp Pro Glu Val Lys Phe Ser Trp Phe Val Asp
145 150 155 160

Asp Val Glu Val Asn Thr Ala Thr Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Ala Leu Arg Ile Gln His Gln Asp
180 185 190

Trp Thr Gly Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Glu Gly Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Val Arg Thr Ile Ser Arg Thr Lys Gly Pro Ala Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Ala Pro Pro Gln Glu Glu Leu Ser Lys
225 230 235 240

Ser Thr Val Ser Leu Thr Cys Met Val Thr Ser Phe Tyr Pro Asp Tyr
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Gln Arg Asn Gly Gln Pro Glu Ser Glu Asp Lys
260 265 270

Tyr Gly Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ala Asp Ser Ser Tyr Phe Leu
275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Arg Val Asp Arg Asn Ser Trp Gln Glu Gly Asp Thr
290 295 300

Tyr Thr Cys Val Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320

Lys Ser Thr Ser Lys Ser Ala Gly Lys

325

<210> 69

<211> 990

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 69

```

gcctccacca cagccccgaa agtctaccct ctgagttctt gctgcgggga caagtccagc      60
tccaccgtga ccctgggctg cctgggtctcc agctacatgc ccgagccggt gaccgtgacc      120
tggaactcgg gtgccctgaa gagcggcgtg cacaccttcc cggccgtcct tcagtcctcc      180
gggctgtact ctctcagcag catggtgacc gtgcccggca gcacctcagg acagaccttc      240
acctgcaacg tagccccacc ggccagcagc accaagggtgg acaaggctgt tgatcccaca      300
tgcaaaccat caccctgtga ctgttgccca cccctgagc tccccggagg accctctgtc      360
ttcatcttcc caccgaaacc caaggacacc ctcaaatct cgggaacgcc cgaggtcacg      420
tgtgtggtgg tggacgtggg ccacgatgac cccgaggtga agttctcctg gttcgtggac      480
gacgtggagg taaacacagc cacgacgaag ccgagagagg agcagttcaa cagcacctac      540
cgcgtggtca gcgccctgcg catccagcac caggactgga ctggaggaaa ggagttcaag      600
tgcaagggtcc acaacgaagg cctcccggcc cccatcgtga ggaccatctc caggaccaaa      660
gggccggccc gggagccgca ggtgtatgtc ctggccccac cccaggaaga gctcagcaaa      720
agcacggtca gcctcacctg catggtcacc agcttctacc cagactacat cgccgtggag      780
tggcagagaa acgggcagcc tgagtcggag gacaagtacg gcacgacccc gcccagctg      840
gacgccgaca gtcctactt cctgtacagc aagctcaggg tggacaggaa cagctggcag      900
gaaggagaca cctacacgtg tgtggtgatg cagaggccc tgcacaatca ctacacgcag      960
aagtccacct ctaagtctgc gggtaaatga      990

```

<210> 70

<211> 329

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 70

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Tyr Pro Leu Ser Ser Cys Cys Gly

1

5

10

15

Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr

20 25 30
Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Lys Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Gly Ser Thr Ser Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Ala Val Asp Pro Arg Cys Lys Thr Thr Cys Asp Cys Cys Pro Pro Pro
100 105 110
Glu Leu Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Gly His Asp Asp Pro Glu Val Lys Phe Ser Trp Phe Val Asp
145 150 155 160
Asp Val Glu Val Asn Thr Ala Thr Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Ala Leu Arg Ile Gln His Gln Asp
180 185 190
Trp Thr Gly Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Asn Glu Gly Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Val Arg Thr Ile Ser Arg Thr Lys Gly Pro Ala Arg
 210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Ala Pro Pro Gln Glu Glu Leu Ser Lys
 225 230 235 240

Ser Thr Val Ser Leu Thr Cys Met Val Thr Ser Phe Tyr Pro Asp Tyr
 245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Gln Arg Asn Gly Gln Pro Glu Ser Glu Asp Lys
 260 265 270

Tyr Gly Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ala Asp Gly Ser Tyr Phe Leu
 275 280 285

Tyr Ser Arg Leu Arg Val Asp Arg Asn Ser Trp Gln Glu Gly Asp Thr
 290 295 300

Tyr Thr Cys Val Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 305 310 315 320

Lys Ser Thr Ser Lys Ser Ala Gly Lys
 325

<210> 71

<211> 990

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 71

gcctccacca cagccccgaa agtctaccct ctgagttcct gctgcgggga caagtccagc	60
tccaccgtga ccctgggctg cctggtctcc agctacatgc ccgagccggt gaccgtgacc	120
tggaactcgg gtgccctgaa gagcggcgtg cacaccttcc cggccgtcct tcagtcctcc	180
gggctctact ctctcagcag catggtgacc gtgcccggca gcacctcagg aacccagacc	240

```

ttcacctgca acgtagccca cccggccagc agcaccaagg tggacaaggc tgttgatccc 300
agatgcaaaa caacctgtga ctgttgccca cgcctgagc tccctggagg accctctgtc 360
ttcatcttcc caccgaaacc caaggacacc ctcacaatct cgggaacgcc cgaggtcacg 420
tgtgtggtgg tggacgtggg ccacgatgac cccgaggtga agttctcctg gttcgtggac 480
gacgtggagg taaacacagc cacgacgaag ccgagagagg agcagttcaa cagcacctac 540
cgcgtggtca gcgccctgcg catccagcac caggactgga ctggaggaaa ggagttcaag 600
tgcaaggtcc acaacgaagg cctcccagcc cccatcgtga ggaccatctc caggaccaaa 660
gggccggccc gggagccgca ggtgtatgtc ctggccccac cccaggaaga gctcagcaaa 720
agcacggtca gcctcacctg catggtcacc agcttctacc cagactacat cgccgtggag 780
tggcagagaa atgggcagcc tgagtcagag gacaagtacg gcacgacccc tccccagctg 840
gacgccgacg gctcctactt cctgtacagc aggctcaggg tggacaggaa cagctggcag 900
gaaggagaca cctacacgtg tgtggtgatg cacgaggccc tgcacaatca ctacacgcag 960
aagtccacct ctaagtctgc gggtaaata 990

```

<210> 72

<211> 326

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 72

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Tyr Pro Leu Ala Ser Ser Cys Gly

1 5 10 15

Asp Thr Ser Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Lys Ser

35 40 45

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

50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ala Ser Ser Ser Gly Gln Thr Phe

65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Ala
85 90 95

Val Gly Val Ser Ile Asp Cys Ser Lys Cys His Asn Gln Pro Cys Val
100 105 110

Arg Glu Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
115 120 125

Met Ile Thr Gly Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asn Val Gly
130 135 140

His Asp Asn Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu
145 150 155 160

Val His Thr Ala Arg Ser Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
165 170 175

Tyr Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Thr Gly
180 185 190

Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Gly Leu Ser Ala Pro
195 200 205

Ile Val Arg Ile Ile Ser Arg Ser Lys Gly Pro Ala Arg Glu Pro Gln
210 215 220

Val Tyr Val Leu Asp Pro Pro Lys Glu Glu Leu Ser Lys Ser Thr Leu
225 230 235 240

Ser Val Thr Cys Met Val Thr Gly Phe Tyr Pro Glu Asp Val Ala Val
245 250 255

Glu Trp Gln Arg Asn Arg Gln Thr Glu Ser Glu Asp Lys Tyr Arg Thr

260 265 270
 Thr Pro Pro Gln Leu Asp Thr Asp Arg Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285
 Leu Arg Val Asp Arg Asn Ser Trp Gln Glu Gly Asp Ala Tyr Thr Cys
 290 295 300
 Val Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Met Gln Lys Ser Thr
 305 310 315 320
 Ser Lys Ser Ala Gly Lys
 325

<210> 73

<211> 981

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 73

gcctccacca cagccccgaa agtctaccct ctggcatcca gctgcggaga cacatccagc 60
 tccaccgtga ccctgggctg cctgggtgtcc agctacatgc ccgagccggt gaccgtgacc 120
 tggaactcgg gtgccctgaa gagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct tcagtcctcc 180
 gggctctact ctctcagcag catggtgacc gtgcccgcc gacagctcagg acagaccttc 240
 acctgcaacg tagcccaccc ggccagcagc accaagggtgg acaaggctgt tgggggtctcc 300
 attgactgct ccaagtgtca taaccagcct tgcgtgaggg aaccatctgt cttcatcttc 360
 ccaccgaaac ccaaagacac cctgatgatac acaggaacgc ccgaggtcac gtgtgtggtg 420
 gtgaacgtgg gccacgataa ccccaggtg cagttctcct ggttcgtgga tgacgtggag 480
 gtgcacacgg ccaggtcgaa gccaagagag gagcagttca acagcacgta ccgcgtggtc 540
 agcgccctgc ccatccagca ccaggactgg actggaggaa aggagttcaa gtgcaaggtc 600
 aacaacaaag gcctctcggc ccccatcgtg aggatcatct ccaggagcaa agggccggcc 660
 cgggagccgc aggtgtatgt cctggacca cccaaggaag agctcagcaa aagcacgctc 720
 agcgtcacct gcatggtcac cggcttctac ccagaagatg tagccgtgga gtggcagaga 780
 aaccggcaga ctgagtcgga ggacaagtac cgcacgaccc cgccccagct ggacaccgac 840
 cgctcctact tcctgtacag caagctcagg gtggacagga acagctggca ggaaggagac 900

gcctacacgt gtgtggtgat gcacgaggcc ctgcacaatc actacatgca gaagtcacc 960
tctaagtctg cgggtaaag a 981

<210> 74

<211> 326

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 74

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Tyr Pro Leu Ser Ser Cys Cys Gly
1 5 10 15

Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Lys Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Gly Ser Thr Ser Gly Gln Thr Phe
65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Ala
85 90 95

Val Gly Val Ser Ser Asp Cys Ser Lys Pro Asn Asn Gln His Cys Val
100 105 110

Arg Glu Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
115 120 125

Met Ile Thr Gly Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asn Val Gly
130 135 140

His Asp Asn Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu
145 150 155 160

Val His Thr Ala Arg Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
165 170 175

Tyr Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Thr Gly
180 185 190

Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Ile Lys Gly Leu Ser Ala Ser
195 200 205

Ile Val Arg Ile Ile Ser Arg Ser Lys Gly Pro Ala Arg Glu Pro Gln
210 215 220

Val Tyr Val Leu Asp Pro Pro Lys Glu Glu Leu Ser Lys Ser Thr Val
225 230 235 240

Ser Val Thr Cys Met Val Ile Gly Phe Tyr Pro Glu Asp Val Asp Val
245 250 255

Glu Trp Gln Arg Asp Arg Gln Thr Glu Ser Glu Asp Lys Tyr Arg Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ala Asp Arg Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Arg Val Asp Arg Asn Ser Trp Gln Arg Gly Asp Thr Tyr Thr Cys
290 295 300

Val Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Met Gln Lys Ser Thr
305 310 315 320

Ser Lys Ser Ala Gly Lys

325

<210> 75

<211> 981

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 75

```

gcctccacca cagccccgaa agtctaccct ctgagttcct gctgcgggga caagtccagc      60
tccaccgtga ccctgggctg cctgggtgtcc agctacatgc ccgagccggt gaccgtgacc      120
tggaactcgg gtgccctgaa gagcggcgtg cacaccttcc cggccgtcct tcagtcctcc      180
gggctctact ctctcagcag catggtgacc gtgcccggca gcacctcagg acagaccttc      240
acctgcaacg tagccccacc ggccagcagc accaagggtgg acaaggctgt tggggctctcc      300
agtgactgct ccaagcctaa taaccagcat tgcgtgaggg aaccatctgt cttcatcttc      360
ccaccgaaac ccaaagacac cctgatgatc acaggaacgc ccgaggtcac gtgtgtggtg      420
gtgaacgtgg gccacgataa ccccgaggtg cagttctcct ggttcgtgga cgacgtggag      480
gtgcacacgg ccaggacgaa gccgagagag gagcagttca acagcacgta ccgcgtggtc      540
agcgccttgc ccatccagca ccaggactgg actggaggaa aggagttcaa gtgcaaggtc      600
aacatcaaag gcctctcggc ctccatcgtg aggatcatct ccaggagcaa agggccggcc      660
cgggagccgc aggtgtatgt cctggacca cccaaggaag agctcagcaa aagcacggtc      720
agcgtcacct gcatggtcac cggcttctac ccagaagatg tagacgtgga gtggcagaga      780
gaccggcaga ctgagtcgga ggacaagtac cgcacgacct cgccccagct ggacgccgac      840
cgctcctact tcctgtacag caagctcagg gtggacagga acagctggca gagaggagac      900
acctacacgt gtgtgggtgat gcacgaggcc ctgcacaatc actacatgca gaagtccacc      960
tctaagtctg cgggtaaatg a                                     981

```

<210> 76

<211> 327

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 76

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Tyr Pro Leu Ser Ser Cys Cys Gly

1

5

10

15

Asp Lys Ser Ser Ser Gly Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Lys Ser
35 40 45

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

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

Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Ala Val Gly Val Ser Ser Asp Cys Ser Lys Pro Asn Asn Gln His Cys
100 105 110

Val Arg Glu Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
115 120 125

Leu Met Ile Thr Gly Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asn Val
130 135 140

Gly His Asp Asn Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val
145 150 155 160

Glu Val His Thr Ala Arg Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
165 170 175

Thr Tyr Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Thr
180 185 190

Gly Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Ile Lys Gly Leu Ser Ala

195 200 205
 Ser Ile Val Arg Ile Ile Ser Arg Ser Lys Gly Pro Ala Arg Glu Pro
 210 215 220
 Gln Val Tyr Val Leu Asp Pro Pro Lys Glu Glu Leu Ser Lys Ser Thr
 225 230 235 240
 Val Ser Leu Thr Cys Met Val Ile Gly Phe Tyr Pro Glu Asp Val Asp
 245 250 255
 Val Glu Trp Gln Arg Asp Arg Gln Thr Glu Ser Glu Asp Lys Tyr Arg
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ala Asp Arg Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Lys Leu Arg Val Asp Arg Asn Ser Trp Gln Arg Gly Asp Thr Tyr Thr
 290 295 300
 Cys Val Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Met Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Thr Ser Lys Ser Ala Gly Lys
 325

<210> 77

<211> 984

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 77

gcctccacca cagccccgaa agtctaccct ctgagttctt gctgcgggga caagtccagc 60
 tcgggggtga ccctgggctg cctgggtctcc agctacatgc ccgagccggt gaccgtgacc 120
 tggaactcgg gtgccctgaa gagcggcgtg cacaccttcc cggccgtcct tcagtcctcc 180

```

gggctctact ctctcagcag catggtgacc gtgcccgccg gcagctcagg aaccagacc 240
ttcacctgca acgtagccca cccggccagc agcaccaagg tggacaaggc tgttggggtc 300
tccagtgact gctccaagcc taataaccag cattgcgtga gggaaccatc tgtcttcac 360
ttcccaccga aacccaaaga caccctgatg atcacaggaa cgcccagggt cacgtgtgtg 420
gtggtgaacg tggggccacga taaccccgag gtgcagttct cctggttcgt ggacgacgtg 480
gaggtgcaca cggccaggac gaagccgaga gaggagcagt tcaacagcac gtaccgcgtg 540
gtcagcgccc tgcccatcca gcaccaggac tggactggag gaaaggagtt caagtgaag 600
gtcaacatca aaggcctctc ggcctccatc gtgaggatca tctccaggag caaagggccg 660
gcccgggagc cgcaggtgta tgtcctggac ccaccaagg aagagctcag caaaagcacg 720
gtcagcctca cctgcatggt catcggttc taccagaag atgtagacgt ggagtggcag 780
agagaccggc agactgagtc ggaggacaag taccgcacga ccccgcccca gctggacgcc 840
gaccgctcct acttcctgta cagcaagctc aggtgggaca ggaacagctg gcagagagga 900
gacacctaca cgtgtgtggt gatgcacgag gccctgcaca atcactacat gcagaagtcc 960
acctctaagt ctgcgggtaa atga 984

```

<210> 78

<211> 352

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 78

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Tyr Pro Leu Ala Ser Ser Cys Gly

1 5 10 15

Asp Thr Ser Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Lys Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Arg Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ala Ser Ser Ser Glu Thr Gln Thr

65 70 75 80

Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Ala Val Thr Ala Arg Arg Pro Val Pro Thr Thr Pro Lys Thr Thr Ile
100 105 110

Pro Pro Gly Lys Pro Thr Thr Pro Lys Ser Glu Val Glu Lys Thr Pro
115 120 125

Cys Gln Cys Ser Lys Cys Pro Glu Pro Leu Gly Gly Leu Ser Val Phe
130 135 140

Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Pro
145 150 155 160

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Gly Gln Asp Asp Pro Glu Val
165 170 175

Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Arg Thr
180 185 190

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Ala
195 200 205

Leu Arg Ile Gln His Gln Asp Trp Leu Gln Gly Lys Glu Phe Lys Cys
210 215 220

Lys Val Asn Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Val Arg Thr Ile Ser
225 230 235 240

Arg Thr Lys Gly Gln Ala Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Ala Pro
245 250 255

Pro Arg Glu Glu Leu Ser Lys Ser Thr Leu Ser Leu Thr Cys Leu Ile
 260 265 270

Thr Gly Phe Tyr Pro Glu Glu Ile Asp Val Glu Trp Gln Arg Asn Gly
 275 280 285

Gln Pro Glu Ser Glu Asp Lys Tyr His Thr Thr Ala Pro Gln Leu Asp
 290 295 300

Ala Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Arg Val Asn Lys Ser
 305 310 315 320

Ser Trp Gln Glu Gly Asp His Tyr Thr Cys Ala Val Met His Glu Ala
 325 330 335

Leu Arg Asn His Tyr Lys Glu Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
 340 345 350

<210> 79

<211> 1059

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 79

gcctccacca cagccccgaa agtctaccct ctggcatcca gctgcggaga cacatccagc 60
 tccaccgtga ccctgggctg cctgggtctcc agctacatgc ccgagccggt gaccgtgacc 120
 tggaactcgg gtgccctgaa gagcggcgtg cacaccttcc cggccgtccg gcagtcctct 180
 gggctgtact ctctcagcag catggtgact gtgcccgcga gcagctcaga aaccagacc 240
 ttcacctgca acgtagccca cccggccagc agcaccaagg tggacaaggc tgtcactgca 300
 aggcgtccag tcccgacgac gccaaagaca actatccctc ctggaaaacc cacaacccca 360
 aagtctgaag ttgaaaagac accctgccag tgttccaaat gcccagaacc tctgggagga 420
 ctgtctgtct tcatcttccc accgaaaccc aaggacaccc tcacaatctc gggaacgccc 480
 gaggtcacgt gtgtggtggt ggacgtgggc caggatgacc ccgaggtgca gttctcctgg 540
 ttcgtggacg acgtggaggt gcacacggcc aggacgaagc cgagagagga gcagttcaac 600
 agcacctacc gcgtgggtcag cgccctgcgc atccagcacc aggactggct gcagggaaaag 660

gagttcaagt gcaaggtcaa caacaaaggc ctcccgcccc ccattgtgag gaccatctcc 720
 aggaccaaag ggcaggcccc ggagccgcag gtgtatgtcc tggccccacc ccgggaagag 780
 ctcagcaaaa gcacgctcag cctcacctgc ctgatcaccg gtttctaccc agaagagata 840
 gacgtggagt ggcagagaaa tgggcagcct gagtcggagg acaagtacca cacgaccgca 900
 cccagctgg atgctgacgg ctcctacttc ctgtacagca agctcagggt gaacaagagc 960
 agctggcagg aaggagacca ctacacgtgt gcagtgatgc acgaagcttt acggaatcac 1020
 taaaaagaga agtccatctc gaggtctccg ggtaaata 1059

<210> 80

<211> 352

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 80

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Tyr Pro Leu Ala Ser Arg Cys Gly
 1 5 10 15

Asp Thr Ser Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Lys Ser
 35 40 45

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

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ala Ser Thr Ser Glu Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Ala Val Thr Ala Arg Arg Pro Val Pro Thr Thr Pro Lys Thr Thr Ile
 100 105 110

Pro Pro Gly Lys Pro Thr Thr Gln Glu Ser Glu Val Glu Lys Thr Pro
115 120 125

Cys Gln Cys Ser Lys Cys Pro Glu Pro Leu Gly Gly Leu Ser Val Phe
130 135 140

Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Pro
145 150 155 160

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Gly Gln Asp Asp Pro Glu Val
165 170 175

Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Arg Thr
180 185 190

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Ala
195 200 205

Leu Arg Ile Gln His Gln Asp Trp Leu Gln Gly Lys Glu Phe Lys Cys
210 215 220

Lys Val Asn Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Val Arg Thr Ile Ser
225 230 235 240

Arg Thr Lys Gly Gln Ala Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Ala Pro
245 250 255

Pro Arg Glu Glu Leu Ser Lys Ser Thr Leu Ser Leu Thr Cys Leu Ile
260 265 270

Thr Gly Phe Tyr Pro Glu Glu Ile Asp Val Glu Trp Gln Arg Asn Gly
275 280 285

Gln Pro Glu Ser Glu Asp Lys Tyr His Thr Thr Ala Pro Gln Leu Asp

290	295	300	
Ala Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Arg Val Asn Lys Ser			
305	310	315	320
Ser Trp Gln Glu Gly Asp His Tyr Thr Cys Ala Val Met His Glu Ala			
	325	330	335
Leu Arg Asn His Tyr Lys Glu Lys Ser Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys			
	340	345	350

<210> 81

<211> 1059

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 81

gcctccacca cagccccgaa agtctaccct ctggcatccc gctgcggaga cacatccagc	60
tccaccgtga ccctgggctg cctgggtctcc agctacatgc ccgagccggt gaccgtgacc	120
tggaaactcg gtgccctgaa gagtggcgtg cacaccttcc cggccgtcct tcagtcctcc	180
gggctgtact ctctcagcag catgggtgacc gtgcccgccg gcacctcaga aaccagacc	240
ttcacctgca acgtagccca cccggccagc agcaccaagg tggacaaggc tgtcactgca	300
aggcgtccag tcccgcagac gccaaagaca accatccctc ctggaaaacc cacaaccag	360
gagtctgaag ttgaaaagac accctgccag tgttccaaat gcccagaacc tctgggagga	420
ctgtctgtct tcattctccc accgaaaccc aaggacaccc tcacaatctc gggaacgccc	480
gaggtcacgt gtgtgggtgt ggacgtgggc caggatgacc ccgaggtgca gttctcctgg	540
ttcgtggacg acgtggaggt gcacacggcc aggacgaagc cgagagagga gcagttcaac	600
agcacctacc gcgtgggtcag cgccctgcgc atccagcacc aggactggct gcagggaaag	660
gagttcaagt gcaaggtcaa caacaaaggc ctcccggccc ccattgtgag gaccatctcc	720
aggaccaaag ggcaggcccg ggagccgcag gtgtatgtcc tggccccacc ccgggaagag	780
ctcagcaaaa gcacgctcag cctcacctgc ctgatcaccg gtttctaccc agaagagata	840
gacgtggagt ggcagagaaa tgggcagcct gagtcggagg acaagtacca cacgaccgca	900
ccccagctgg atgctgacgg ctctacttc ctgtacagca ggctcagggt gaacaagagc	960
agctggcagg aaggagacca ctacacgtgt gcagtgatgc atgaagcttt acggaatcac	1020
tacaaagaga agtccatctc gaggtctccg ggtaaatga	1059

<210> 82

<211> 105

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 82

Gln Pro Lys Ala Ser Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu

1 5 10 15

Glu Leu Gly Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Gly Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Ser Gly Ser Pro Val

35 40 45

Thr Gln Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys

50 55 60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Asp Lys Trp Lys Ser

65 70 75 80

His Ser Ser Phe Ser Cys Leu Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu

85 90 95

Lys Lys Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser

100 105

<210> 83

<211> 318

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 83

cagcccaagg cctccccctc ggtcacactc ttcccgccct cctctgagga gctcggcgcc

60

aacaaggcca ccctggtgtg cctcatcagc gacttctacc ccagcggcgt gacggtggcc

120

tgggaaggcaa gcggcagccc cgtcacccag ggcgtggaga ccaccaagcc ctccaagcag 180
 agcaacaaca agtacgcggc cagcagctac ctgagcctga cgcctgacaa gtggaaatct 240
 cacagcagct tcagctgcct ggtcacgcac gaggggagca ccgtggagaa gaaggtggcc 300
 cccgcagagt gctcttag 318

<210> 84

<211> 331

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 84

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys Gly

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Ser Thr Val Ala Leu Ala Cys Leu Val Ser Gly Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ser Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Thr Val Thr Val Pro Ser Ser Arg Trp Pro Ser Glu Thr

65 70 75 80

Phe Thr Cys Asn Val Val His Pro Ala Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Pro Val Pro Lys Glu Ser Thr Cys Lys Cys Ile Ser Pro Cys Pro Val

100 105 110

Pro Glu Ser Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro

115 120 125

Lys Asp Ile Leu Arg Ile Thr Arg Thr Pro Glu Ile Thr Cys Val Val
130 135 140

Leu Asp Leu Gly Arg Glu Asp Pro Glu Val Gln Ile Ser Trp Phe Val
145 150 155 160

Asp Gly Lys Glu Val His Thr Ala Lys Thr Gln Pro Arg Glu Gln Gln
165 170 175

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Glu His Gln
180 185 190

Asp Trp Leu Thr Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn His Ile Gly
195 200 205

Leu Pro Ser Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ala Arg Gly Gln Ala
210 215 220

His Gln Pro Ser Val Tyr Val Leu Pro Pro Ser Pro Lys Glu Leu Ser
225 230 235 240

Ser Ser Asp Thr Val Thr Leu Thr Cys Leu Ile Lys Asp Phe Phe Pro
245 250 255

Pro Glu Ile Asp Val Glu Trp Gln Ser Asn Gly Gln Pro Glu Pro Glu
260 265 270

Ser Lys Tyr His Thr Thr Ala Pro Gln Leu Asp Glu Asp Gly Ser Tyr
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ser Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asp Thr Phe Thr Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu Gln Asn His Tyr

305

310

315

320

Thr Asp Leu Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys

325

330

<210> 85

<211> 996

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 85

```

gcctccacca cggccccctc ggtttttcca ctggccccca gctgcgggtc cacttccggc      60
tccacggtgg ccctggcctg cctgggtgtca ggctacttcc ccgagcctgt aactgtgtcc      120
tggaattccg gctccttgac cagcgggtgtg cacaccttcc cgtccgtcct gcagtcctca      180
gggctctact ccctcagcag cacgggtgaca gtgccctcca gcaggtggcc cagcgagacc      240
ttcacctgca acgtgggtcca cccggccagc aacactaaag tagacaagcc agtgcccaaa      300
gagtccacct gcaagtgtat atccccatgc ccagtccctg aatcactggg agggccttcg      360
gtctttcatct ttccccgaa acccaaggac atcctcagga ttaccgaac acccgagatc      420
acctgtgtgg tgtagatct gggccgtgag gaccctgagg tgcagatcag ctggttcgtg      480
gatggtaagg aggtgcacac agccaagacg cagcctcgtg agcagcagtt caacagcacc      540
taccgtgtgg tcagcgtcct cccattgag caccaggact ggctcaccgg aaaggagttc      600
aagtgcagag tcaaccacat aggcctcccg tcccccatcg agaggactat ctcaaagcc      660
agagggaag cccatcagcc cagtgtgtat gtcctgccac catccccaaa ggagttgtca      720
tccagtgaca cggtcaccct gacctgcctg atcaaagact tcttcccacc tgagattgat      780
gtggagtggc agagcaatgg acagccggag cccgagagca agtaccacac gactgcgccc      840
cagctggacg aggacgggtc ctacttcctg tacagcaagc tctctgtgga caagagccgc      900
tggcagcagg gagacacctt cacatgtgcg gtgatgcatg aagctctaca gaaccactac      960
acagatctat ccctctcca ttctccgggt aaatga      996

```

<210> 86

<211> 102

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 86

Pro Ser Val Phe Leu Phe Lys Pro Ser Glu Glu Gln Leu Arg Thr Gly

1 5 10 15
 Thr Val Ser Val Val Cys Leu Val Asn Asp Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
 20 25 30
 Asn Val Lys Val Lys Val Asp Gly Val Thr Gln Asn Ser Asn Phe Gln
 35 40 45
 Asn Ser Phe Thr Asp Gln Asp Ser Lys Lys Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 50 55 60
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Ser Ser Glu Tyr Gln Ser His Asn Ala Tyr
 65 70 75 80
 Ala Cys Glu Val Ser His Lys Ser Leu Pro Thr Ala Leu Val Lys Ser
 85 90 95
 Phe Asn Lys Asn Glu Cys
 100

<210> 87

<211> 309

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 87

ccatccgtct tcctcttcaa accatctgag gaacagctga ggaccggaac tgtctctgtc 60
 gtgtgcttgg tgaatgattt ctaccccaaa gatatcaatg tcaaggtgaa agtggatggg 120
 gttaccaga acagcaactt ccagaacagc ttcacagacc aggacagcaa gaaaagcacc 180
 tacagcctca gcagcaccct gacactgtcc agctcagagt accagagcca taacgcctat 240
 gcgtgtgagg tcagccacaa gagcctgccc accgcctctg tcaagagctt caataagaat 300
 gaatgttag 309

<210> 88

<211> 106

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 88

Gly Gln Pro Lys Ser Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ser Val Asn Val Val Trp Lys Ala Asp Gly Ser Thr

35 40 45

Ile Asn Gln Asn Val Lys Thr Thr Gln Ala Ser Lys Gln Ser Asn Ser

50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Thr Leu Thr Gly Ser Glu Trp Lys

65 70 75 80

Ser Lys Ser Ser Tyr Thr Cys Glu Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val

85 90 95

Thr Lys Thr Val Lys Pro Ser Glu Cys Ser

100 105

<210> 89

<211> 321

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 89

ggtcagccca agtccgcacc ctcggtcacc ctgttcccgc cttccacgga ggagctcagt 60

accaacaagg ccaccgtggt gtgtctcatc aacgacttct acccgggtag cgtgaacgtg 120

gtctggaagg cagatggcag caccatcaat cagaacgtga agaccacca ggcctccaaa 180

cagagcaaca gcaagtacgc ggccagcagc tacctgacct tgacgggcag cgagtgggaag 240

tctaagagca gttacacctg cgagggtcacg cacgagggga gcaccgtgac gaagacagtg 300

aagccctcag agtgttctta g

321

<210> 90

<211> 331

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 90

Ala Ser Thr Thr Pro Pro Lys Val Tyr Pro Leu Thr Ser Cys Cys Gly

1 5 10 15

Asp Thr Ser Ser Ser Ile Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Ile Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ala Ser Thr Ser Gly Ala Gln Thr

65 70 75 80

Phe Ile Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Gly Cys Pro Asp Pro Cys Lys His Cys Arg Cys Pro

100 105 110

Pro Pro Glu Leu Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys

115 120 125

Pro Lys Asp Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

130 135 140

Val Val Asp Val Gly Gln Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe
145 150 155 160

Val Asp Asn Val Glu Val Arg Thr Ala Arg Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
180 185 190

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

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Val Arg Thr Ile Ser Arg Thr Lys Gly Gln
210 215 220

Ala Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Ala Pro Pro Gln Glu Glu Leu
225 230 235 240

Ser Lys Ser Thr Leu Ser Val Thr Cys Leu Val Thr Gly Phe Tyr Pro
245 250 255

Asp Tyr Ile Ala Val Glu Trp Gln Lys Asn Gly Gln Pro Glu Ser Glu
260 265 270

Asp Lys Tyr Gly Thr Thr Thr Ser Gln Leu Asp Ala Asp Gly Ser Tyr
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Arg Val Asp Lys Asn Ser Trp Gln Glu Gly
290 295 300

Asp Thr Tyr Ala Cys Val Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Ile Ser Lys Pro Pro Gly Lys

325

330

<210> 91

<211> 996

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 91

```

gcctcaacaa caccctcgaa agtctaccct ctgacttctt gctgcgggga cacgtccagc      60
tccatcgtga ccctgggctg cctgggtctcc agctatatgc ccgagccggt gaccgtgacc      120
tggaactctg gtgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggccatcct gcagtcctcc      180
gggctctact ctctcagcag cgtgggtgacc gtgccggcca gcacctcagg agcccagacc      240
ttcatctgca acgtagccca cccggccagc agcaccaagg tggacaagcg tgttgagccc      300
ggatgcccgg acccatgcaa acattgccga tgcccacccc ctgagctccc cggaggaccg      360
tctgtcttca tcttcccacc gaaacccaag gacaccctta caatctctgg aacgcccag      420
gtcacgtgtg tgggtgggga cgtgggccag gatgaccccg aggtgcagtt ctcctgggtc      480
gtggacaacg tggaggtgag cacggccagg acaaagccga gagaggagca gttcaacagc      540
accttccgag tggtcagcgc cctgcccacg cagcaccaag actggactgg aggaaaggag      600
ttcaagtgca aggtccacaa cgaagccctc ccggccccc tctgtaggac catctccagg      660
accaaagggc agggccggga gccgcagggt tacgtcctgg cccacccca ggaagagctc      720
agcaaaagca cgctcagcgt cacctgcctg gtcaccggct tctaccaga ctacatgcc      780
gtggagtggc agaaaaatgg gcagcctgag tcggaggaca agtacggcac gaccacatcc      840
cagctggacg ccgacggctc ctacttctg tacagcaggc tcagggtgga caagaacagc      900
tggcaagaag gagacaccta cgcgtgtgtg gtgatgcacg aggctctgca caaccactac      960
acacagaagt cgatctctaa gcctccgggt aaatga                                996

```

<210> 92

<211> 329

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 92

```

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Tyr Pro Leu Thr Ser Cys Cys Gly
1           5           10           15

```

```

Asp Thr Ser Ser Ser Ser Ser Ile Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser

```

20 25 30
Ser Tyr Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu
35 40 45
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Ile Leu Gln Ser Ser Gly Leu
50 55 60
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ala Ser Thr Ser Gly Ala
65 70 75 80
Gln Thr Phe Ile Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Ala Lys Val
85 90 95
Asp Lys Arg Val Gly Ile Ser Ser Asp Tyr Ser Lys Cys Ser Lys Pro
100 105 110
Pro Cys Val Ser Arg Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Ser Leu Met Ile Thr Gly Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Gly Gln Gly Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp
145 150 155 160
Asn Val Glu Val Arg Thr Ala Arg Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Asp His
180 185 190
Trp Thr Gly Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val His Ser Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Val Arg Thr Ile Ser Arg Ala Lys Gly Gln Ala Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Ala Pro Pro Gln Glu Glu Leu Ser Lys
225 230 235 240

Ser Thr Leu Ser Val Thr Cys Leu Val Thr Gly Phe Tyr Pro Asp Tyr
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Gln Arg Ala Arg Gln Pro Glu Ser Glu Asp Lys
260 265 270

Tyr Gly Thr Thr Thr Ser Gln Leu Asp Ala Asp Gly Ser Tyr Phe Leu
275 280 285

Tyr Ser Arg Leu Arg Val Asp Lys Ser Ser Trp Gln Arg Gly Asp Thr
290 295 300

Tyr Ala Cys Val Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320

Lys Ser Ile Ser Lys Pro Pro Gly Lys
325

<210> 93

<211> 990

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 93

gcctccacca cagccccgaa agtctaccct ctgacttctt gctgcgggga cacgtccagc	60
tccagctcca tcgtgaccct gggctgcctg gtctccagct atatgccga gccggtgacc	120
gtgacctgga actctggtgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc catcctgcag	180
tcctccgggc tctactctct cagcagcgtg gtgaccgtgc cggccagcac ctcaggagcc	240

cagaccttca tctgcaacgt agcccacccg gccagcagcg ccaaggtgga caagcgtggt 300
 gggatctcca gtgactactc caagtgttct aaaccgcctt gcgtgagccg accgtctgtc 360
 ttcatcttcc ccccgaacc caaggacagc ctcatgatca caggaacgcc cgaggtcacg 420
 tgtgtggtgg tggacgtggg ccagggtgac cccgaggtgc agttctcctg gttcgtggac 480
 aacgtggagg tgcgcacggc caggacaaag ccgagagagg agcagttcaa cagcaccttc 540
 cgcgtggtca gcgccctgcc catccagcac gaccactgga ctggaggaaa ggagttcaag 600
 tgcaaggtcc acagcaaagg cctcccggcc cccatcgtga ggaccatctc cagggccaaa 660
 gggcaggccc gggagccgca ggtgtacgtc ctggccccac cccaggaaga gctcagcaaa 720
 agcacgtca gcgtcacctg cctggtcacc ggcttctacc cagactacat cgccgtggag 780
 tggcagagag cgcggcagcc tgagtcggag gacaagtacg gcacgaccac atcccagctg 840
 gacgccgacg gctcctactt cctgtacagc aggtcaggg tggacaagag cagctggcaa 900
 agaggagaca cctacgcgtg tgtggtgatg cacgaggctc tgcacaacca ctacacacag 960
 aagtcgatct ctaagcctcc gggtaaata 990

<210> 94

<211> 328

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 94

Ala Pro Lys Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Cys Gly Arg

1 5 10 15

Asp Thr Ser Gly Pro Asn Val Ala Leu Gly Cys Leu Ala Ser Ser Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Met Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ala Ser Ser Leu Ser Ser Lys Ser

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Pro Ala Thr Thr Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Gly Thr Lys Thr Lys Pro Pro Cys Pro Ile Cys Pro Gly Cys
100 105 110

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

Thr Leu Met Ile Ser Gln Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser Lys Glu His Ala Glu Val Gln Phe Ser Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Thr Ala Glu Thr Arg Pro Lys Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Lys Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Val Asp Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Thr Arg Thr Ile Ser Lys Ala Ile Gly Gln Ser Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Pro Ala Glu Glu Leu Ser Arg Ser
225 230 235 240

Lys Val Thr Val Thr Cys Leu Val Ile Gly Phe Tyr Pro Pro Asp Ile
245 250 255

His Val Glu Trp Lys Ser Asn Gly Gln Pro Glu Pro Glu Gly Asn Tyr

260 265 270
 Arg Thr Thr Pro Pro Gln Gln Asp Val Asp Gly Thr Phe Phe Leu Tyr
 275 280 285
 Ser Lys Leu Ala Val Asp Lys Ala Arg Trp Asp His Gly Glu Thr Phe
 290 295 300
 Glu Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 305 310 315 320
 Ser Ile Ser Lys Thr Gln Gly Lys
 325

<210> 95

<211> 987

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 95

gcccccaaga cggccccatc ggtctaccct ctggccccct gcggcaggga cacgtctggc 60
 cctaactggt ccttgggctg cctggcctca agctacttcc ccgagccagt gaccatgacc 120
 tggaactcgg gcgccctgac cagtggcgtg cataccttcc catccgtcct gcagccgtca 180
 gggctctact ccctcagcag catggtgacc gtgccggcca gcagcctgtc cagcaagagc 240
 tacacctgca atgtcaacca cccggccacc accaccaagg tggacaagcg tgttggaaca 300
 aagaccaaac caccatgtcc catatgcccc ggctgtgaag tggccggggc ctcggtcttc 360
 atcttcctc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc agacccccga ggtcacgtgc 420
 gtggtggtgg acgtcagcaa ggagcacgcc gaggtccagt tctcctggta cgtggacggc 480
 gtagaggtgc acacggccga gacgagacca aaggaggagc agttcaacag cacctaccgt 540
 gtggtcagcg tcctgcccac ccagcaccag gactggctga aggggaagga gttcaagtgc 600
 aaggtcaaca acgtagacct ccagcccc atcacagga ccatctccaa ggctataggg 660
 cagagccggg agccgcaggt gtacaccctg cccccaccg ccgaggagct gtccaggagc 720
 aaagtcaccg taacctgcct ggtcattggc ttctaccac ctgacatcca tgttgagtgg 780
 aagagcaacg gacagccgga gccagagggc aattaccgca ccaccccgcc ccagcaggac 840
 gtggacggga ctttcttcct gtacagcaag ctgcggtgg acaaggcaag atgggacct 900

ggagaaacat ttgagtgtgc ggtgatgcac gaggctctgc acaaccacta cacccagaag 960
tccatctcca agactcaggg taaatga 987

<210> 96

<211> 328

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 96

Ala Pro Lys Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Cys Gly Arg
1 5 10 15

Asp Val Ser Gly Pro Asn Val Ala Leu Gly Cys Leu Ala Ser Ser Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ala Ser Ser Leu Ser Ser Lys Ser
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Pro Ala Thr Thr Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Gly Ile His Gln Pro Gln Thr Cys Pro Ile Cys Pro Gly Cys
100 105 110

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

Thr Leu Met Ile Ser Gln Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser Lys Glu His Ala Glu Val Gln Phe Ser Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Thr Ala Glu Thr Arg Pro Lys Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Lys Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Val Asp Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Thr Arg Thr Ile Ser Lys Ala Ile Gly Gln Ser Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Pro Ala Glu Glu Leu Ser Arg Ser
225 230 235 240

Lys Val Thr Leu Thr Cys Leu Val Ile Gly Phe Tyr Pro Pro Asp Ile
245 250 255

His Val Glu Trp Lys Ser Asn Gly Gln Pro Glu Pro Glu Asn Thr Tyr
260 265 270

Arg Thr Thr Pro Pro Gln Gln Asp Val Asp Gly Thr Phe Phe Leu Tyr
275 280 285

Ser Lys Leu Ala Val Asp Lys Ala Arg Trp Asp His Gly Asp Lys Phe
290 295 300

Glu Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
305 310 315 320

Ser Ile Ser Lys Thr Gln Gly Lys

325

<210> 97

<211> 987

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 97

```

gcccccaaga cggccccatc ggtctaccct ctggccccct gcggcagggga cgtgtctggc      60
cctaacgtgg ccttgggctg cctggcctca agctacttcc ccgagccagt gaccgtgacc      120
tggaactcgg gcgccctgac cagtggcgtg cacaccttcc catccgtcct gcagccgtca      180
gggctctact ccctcagcag catggtgacc gtgccggcca gcagcctgtc cagcaagagc      240
tacacctgca atgtcaacca cccggccacc accaccaagg tggacaagcg tgttgggaata      300
caccagccgc aaacatgtcc catatgccca ggctgtgaag tggccggggc ctcgggtcttc      360
atcttccctc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc agacccccga ggtcacgtgc      420
gtgggtgggtg acgtcagcaa ggagcacgcc gaggtccagt tctcctggta cgtggacggc      480
gtagagggtgc acacggccga gacgagacca aaggaggagc agttcaacag cacctaccgt      540
gtggtcagcg tcctgccccat ccagcaccag gactggctga aggggaagga gttcaagtgc      600
aaggtcaaca acgtagacct cccagcccc atcacgagga ccatctccaa ggctataggg      660
cagagccggg agccgcaggt gtacaccctg cccccacccg ccgaggagct gtccaggagc      720
aaagtcacgc taacctgcct ggtcattggc ttctaccac ctgacatcca tgttgagtgg      780
aagagcaacg gacagccgga gccagagaac acataccgca ccaccccgcc ccagcaggac      840
gtggacggga ccttcttctt gtacagcaaa ctgcggtggg acaaggcaag atgggacat      900
ggagacaaat ttgagtgtgc ggtgatgcac gaggctctgc acaaccacta caccagaag      960
tccatctcca agactcaggg taaatga      987

```

<210> 98

<211> 328

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 98

Ala Pro Lys Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1

5

10

15

Asp Thr Ser Gly Pro Asn Val Ala Leu Gly Cys Leu Ala Ser Ser Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Ser Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ala Ser Ser Leu Ser Ser Lys Ser
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Pro Ala Thr Thr Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Gly Thr Lys Thr Lys Pro Pro Cys Pro Ile Cys Pro Ala Cys
100 105 110

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

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Gln Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser Gln Glu Asn Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Arg Pro Lys Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro

195 200 205
 Ala Pro Ile Thr Arg Ile Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Thr Arg Glu
 210 215 220
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro His Ala Glu Glu Leu Ser Arg Ser
 225 230 235 240
 Lys Val Ser Ile Thr Cys Leu Val Ile Gly Phe Tyr Pro Pro Asp Ile
 245 250 255
 Asp Val Glu Trp Gln Arg Asn Gly Gln Pro Glu Pro Glu Gly Asn Tyr
 260 265 270
 Arg Thr Thr Pro Pro Gln Gln Asp Val Asp Gly Thr Tyr Phe Leu Tyr
 275 280 285
 Ser Lys Phe Ser Val Asp Lys Ala Ser Trp Gln Gly Gly Gly Ile Phe
 290 295 300
 Gln Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 305 310 315 320
 Ser Ile Ser Lys Thr Pro Gly Lys
 325

<210> 99

<211> 987

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 99

gcccccaaga cggccccatc ggtctaccct ctggccccct gcagcaggga cacgtctggc 60
 cctaacgtgg ccttgggctg cctggcctca agctacttcc ccgagccagt gaccgtgacc 120
 tggaactcgg gcgccctgtc cagtggcgtg cataccttcc catccgtcct gcagccgtca 180

```

gggctctact ccctcagcag catggtgacc gtgccggcca gcagcctgtc cagcaagagc 240
tacacctgca atgtcaacca cccggccacc accaccaagg tggacaagcg tgttgaaca 300
aagaccaaac caccatgtcc catatgccca gcctgtgaat caccagggcc ctcggtcttc 360
atcttcctc caaaaccaa ggacaccctc atgatctccc ggacaccca ggtcacgtgc 420
gtggtggttg atgtgagcca ggagaacccg gaggtccagt tctcctggta cgtggacggc 480
gtagaggtgc acacggcca gacgaggcca aaggaggagc agttcaacag cacctaccgc 540
gtggtcagcg tcctacccat ccagcaccag gactggctga acgggaagga gttcaagtgc 600
aaggtcaaca acaaagacct cccagcccc atcacaagga tcatctcaa ggccaaaggg 660
cagaccggg agccgcaggt gtacaccctg ccccccacag ccgaggagct gtccaggagc 720
aaagtcagca taacctgcct ggtcattggc ttctaccac ctgacatcga tgtcgagtgg 780
caaagaaacg gacagccgga gccagagggc aattaccgca ccacccgcc ccagcaggac 840
gtggacggga cctacttcct gtacagcaag ttctcggtgg acaaggccag ctggcagggt 900
ggaggcatat tccagtgtgc ggtgatgcac gaggctctgc acaaccacta caccagaag 960
tctatctcca agactccggg taaatga 987

```

<210> 100

<211> 328

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 100

Ala Pro Lys Thr Ala Pro Leu Val Tyr Pro Leu Ala Pro Cys Gly Arg

1 5 10 15

Asp Thr Ser Gly Pro Asn Val Ala Leu Gly Cys Leu Ala Ser Ser Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ala Ser Ser Leu Ser Ser Lys Ser

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Pro Ala Thr Thr Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Gly Thr Lys Thr Lys Pro Pro Cys Pro Ile Cys Pro Ala Cys
100 105 110

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

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Gln Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser Gln Glu Asn Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Arg Pro Lys Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Thr Arg Ile Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Thr Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro His Ala Glu Glu Leu Ser Arg Ser
225 230 235 240

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

Asp Val Glu Trp Gln Arg Asn Gly Gln Pro Glu Pro Glu Gly Asn Tyr

260

265

270

Arg Thr Thr Pro Pro Gln Gln Asp Val Asp Gly Thr Tyr Phe Leu Tyr

275

280

285

Ser Lys Phe Ser Val Asp Lys Ala Ser Trp Gln Gly Gly Gly Ile Phe

290

295

300

Gln Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

305

310

315

320

Ser Ile Ser Lys Thr Pro Gly Lys

325

<210> 101

<211> 987

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 101

gcccccaaga cggccccatt ggtctaccct ctggccccct gcggcaggga cacgtctggc	60
cctaacgtgg ccttgggctg cctggcctca agctacttcc ccgagccagt gaccgtgacc	120
tggaactcgg gcgccctgac cagtggcgtg cataccttcc catccgtcct gcagccgtca	180
gggctctact ccctcagcag catggtgacc gtgccggcca gcagcctgtc cagcaagagc	240
tacacctgca atgtcaacca cccggccacc accaccaagg tggacaagcg tgttggaaaca	300
aagaccaaac caccatgtcc catatgccca gcctgtgaat cgccagggcc ctcggtcttc	360
atcttcctc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacacccca ggtcacgtgc	420
gtggtagttg atgtgagcca ggagaaccg gaggtccagt tctcctggta cgtggacggc	480
gtagagggtg acacggccca gacgaggcca aaggaggagc agttcaacag cacctaccgc	540
gtggtcagcg tcctgcccac ccagcaccag gactggctga acgggaagga gttcaagtgc	600
aaggtcaaca acaaagacct cccagccccc atcacaagga tcatctcaa ggccaaaggg	660
cagacccggg agccgcaggt gtacaccctg ccccccacacg ccgaggagct gtccaggagc	720
aaagtcagca taacctgcct ggtcattggc ttctaccac ctgacatcga tgtcgagtgg	780
caaagaaacg gacagccgga gccagagggc aattaccgca ccaccccgcc ccagcaggac	840

gtggacggga cctacttcct gtacagcaag ttctcggtgg acaaggccag ctggcagggt 900
ggaggcatat tccagtgtgc ggtgatgcac gaggctctgc acaaccacta caccagaag 960
tctatctcca agactccggg taaatga 987

<210> 102

<211> 333

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 102

Ala Tyr Asn Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Cys Gly Arg
1 5 10 15

Asp Val Ser Asp His Asn Val Ala Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Ser Arg
35 40 45

Val Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Ile Val Ala Ala Ser Ser Leu Ser Thr Leu Ser
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Tyr His Pro Ala Thr Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

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

Cys Pro Ala Ala Glu Val Leu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Ile Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Lys Val Thr

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Ser Lys Thr Gln Gly Lys

325

330

<210> 103

<211> 1002

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 103

```

gcctacaaca cagctccatc ggtctaccct ctggccccct gtggcaggga cgtgtctgat      60
cataacgtgg ccttgggctg ccttgtctca agctacttcc ccgagccagt gaccgtgacc      120
tggaactcgg gtgccctgtc cagagtcgtg cataccttcc catccgtcct gcagccgtca      180
gggctctact ccctcagcag catggtgatc gtggcggcca gcagcctgtc caccctgagc      240
tacacgtgca acgtctacca cccggccacc aacaccaagg tggacaagcg tgttgacatc      300
gaacccccca caccatctg tcccgaaatt tgctcatgcc cagctgcaga ggtcctggga      360
gcaccgtcgg tcttcctctt ccctccaaaa cccaaggaca tcctcatgat ctcccggaca      420
cccaaggcca cgtgcgtggt ggtggacgtg agccaggagg aggctgaagt ccagttctcc      480
tggtacgtgg acggcgtaca gttgtacacg gcccagacga ggccaatgga ggagcagttc      540
aacagcacct accgcgtggt cagcgtcctg cccatccagc accaggactg gctgaagggg      600
aaggagttca agtgcaaggt caacaacaaa gacctccttt ccccatcac gaggaccatc      660
tccaaggcta cagggccgag ccgggtgccg caggtgtaca ccctgcccc agcctgggaa      720
gagctgtcca agagcaaagt cagcataacc tgcctgggtca ctggcttcta cccacctgac      780
atcgatgtcg agtggcagag caacggacaa caagagccag agggcaatta ccgcaccacc      840
ccgccccagc aggacgtgga tgggacctac ttctgtaca gcaagctcgc ggtggacaag      900
gtcaggtggc agcgtggaga cctattccag tgtgcggtga tgcacgaggc tctgcacaac      960
cactacacc agaagtccat ctccaagact cagggtaaat ga                          1002

```

<210> 104

<211> 277

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 104

Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser

1

5

10

15

Met Val Thr Val Pro Ala Ser Ser Leu Ser Ser Lys Ser Tyr Thr Cys
20 25 30

Asn Val Asn His Pro Ala Thr Thr Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Gly
35 40 45

Thr Lys Thr Lys Pro Pro Cys Pro Ile Cys Pro Ala Cys Glu Gly Pro
50 55 60

Gly Pro Ser Ala Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
65 70 75 80

Ile Ser Arg Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
85 90 95

Glu Asn Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
100 105 110

His Thr Ala Gln Thr Arg Pro Lys Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
115 120 125

Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
130 135 140

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile
145 150 155 160

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

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

Leu Thr Cys Leu Val Thr Gly Phe Tyr Pro Pro Asp Ile Asp Val Glu
 195 200 205

Trp Gln Arg Asn Gly Gln Pro Glu Pro Glu Gly Asn Tyr Arg Thr Thr
 210 215 220

Pro Pro Gln Gln Asp Val Asp Gly Thr Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 225 230 235 240

Ala Val Asp Lys Ala Ser Trp Gln Arg Gly Asp Thr Phe Gln Cys Ala
 245 250 255

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Phe
 260 265 270

Lys Thr Pro Gly Lys
 275

<210> 105

<211> 834

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 105

accttcccat ccgtcctgca gccgtcaggg ctctactccc tcagcagcat ggtgaccgtg 60
 ccggccagca gcctgtccag caagagctac acctgcaatg tcaaccaccc ggccaccacc 120
 accaaggtgg acaagcgtgt tggaacaaag accaaaccac catgtcccat atgccagcc 180
 tgtgaagggc ccggggccctc ggccttcac ttccctccaa aaccaagga caccctcatg 240
 atctcccga ccccaaggt cacgtgcgtg gtggtagatg tgagccagga gaaccggag 300
 gtccagttct cctggtacgt ggacggcgta gaggtgcaca cggcccagac gaggccaaag 360
 gaggagcagt tcaacagcac ctaccgcgtg gtcagcgtcc tgcccatcca gcaccaggac 420
 tggctgaacg ggaaggagtt caagtgcaag gtcaacaaca aagacctccc agccccatc 480
 acaaggatca tctccaaggc caaagggcag acccgggagc cgcaggtgta caccctgccc 540
 ccaccaccg aggagctgtc caggagcaaa gtcacgctaa cctgcctggg cactggcttc 600
 taccacctg acatcgtatg cgagtggcaa agaaacggac agccggagcc agagggcaat 660

taccgcacca ccccgcccca gcaggacgtg gacgggacct acttcctgta cagcaagctc 720
gcggtggaca aggccagctg gcagcgtgga gacacattcc agtgtgcggt gatgcacgag 780
gctctgcaca accactacac ccagaagtcc atcttcaaga ctccgggtaa atga 834

<210> 106

<211> 318

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 106

Ala Pro Lys Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Cys Gly Arg
1 5 10 15

Asp Val Ser Gly Pro Asn Val Ala Leu Gly Cys Leu Ala Ser Ser Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ala Ser Ser Leu Ser Ser Lys Ser
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Pro Ala Thr Thr Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Gly Ile His Gln Pro Gln Thr Cys Pro Ile Cys Pro Ala Cys
100 105 110

Glu Gly Pro Gly Pro Ser Ala Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp

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

<210> 107

<211> 955

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 107

```

gcccccaaga cggccccatc ggtctaccct ctggccccct gcggcaggga cgtgtctggc      60
cctaacgtgg ccttgggctg cctggcctca agctacttcc ccgagccagt gaccgtgacc      120
tggaaactcgg gcgccctgac cagtggcgtg cacaccttcc catccgtcct gcagccgtca      180
gggctctact ccctcagcag catggtgacc gtgccggcca gcagcctgtc cagcaagagc      240
tacacctgca atgtcaacca cccggccacc accaccaagg tggacaagcg tgttgggaata      300
caccagccgc aaacatgtcc catatgcccc gcctgtgaag ggcccgggcc ctcggccttc      360
atcttccctc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccccaa ggtcacgtgc      420
gtggtggttg atgtgagcca ggagaacccg gaggtccagt tctcctggta cgtggacggc      480
gtagagggtgc acacggccca gacgaggcca aaggaggagc agttcaacag cacctaccgc      540
gtggtcagcg tcctgctcat ccagcaccag gactggctga acgggaagga gttcaagtgc      600
aaggtcaaca acaaagacct cccagcccc atcacaagga tcatctcaa ggccaaaggg      660
cagacccggg agccgcaggt gtacaccctg cccccacca ccgaggagct gtccaggagc      720
aaagtacgc taacctgcct ggtcactggc ttctaccac ctgacatcga tgtcgagtgg      780
caaagaaacg gacagccgga gccagagggc aattaccgca ccacccgcc ccagcaggac      840
gtggacggga cctacttcct gtacagcaag ctgcggtgg acaaggccag ctggcagcgt      900
ggagacacat tccagtgtgc ggtgatgcac gaggctctgc acaaccacta caccc      955

```

<210> 108

<211> 323

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 108

```

Ala Pro Lys Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1           5           10           15

```

```

Asp Thr Ser Gly Pro Asn Val Ala Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr
20           25           30

```


Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ala His Ser Leu Ser Ser Lys Arg
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Pro Ala Thr Lys Thr Lys Val Asp Leu
85 90 95

Cys Val Gly Arg Pro Cys Pro Ile Cys Pro Gly Cys Glu Val Ala Gly
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile Leu Met Ile
115 120 125

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Lys Glu
130 135 140

His Ala Glu Val Gln Phe Ser Trp Tyr Val Asp Gly Glu Glu Val His
145 150 155 160

Thr Ala Glu Thr Arg Pro Lys Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
165 170 175

Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gln His Glu Asp Trp Leu Lys Gly Lys
180 185 190

Glu Phe Glu Cys Lys Val Asn Asn Glu Asp Leu Pro Gly Pro Ile Thr
195 200 205

Arg Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Val Val Arg Ser Pro Glu Val Tyr

210 215 220
 Thr Leu Pro Pro Pro Ala Glu Glu Leu Ser Lys Ser Ile Val Thr Leu
 225 230 235 240
 Thr Cys Leu Val Lys Ser Ile Phe Pro Phe Ile His Val Glu Trp Lys
 245 250 255
 Ile Asn Gly Lys Pro Glu Pro Glu Asn Ala Tyr Arg Thr Thr Pro Pro
 260 265 270
 Gln Glu Asp Glu Asp Arg Thr Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ala Val
 275 280 285
 Asp Lys Ala Arg Trp Asp His Gly Glu Thr Phe Glu Cys Ala Val Met
 290 295 300
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Ser Lys Thr
 305 310 315 320
 Gln Gly Lys

<210> 109

<211> 975

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<220>

<221> misc_feature

<222> (748)..(748)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 109

gcccccaaga cggccccatc ggtctaccct ctggccccct gcagcaggga cacgtctggc

60

```

cctaacgtgg ccttgggctg cctggtctca agctacttcc ccgagccagt gaccgtgacc 120
tggaactcgg gcgccctgac cagtggcgtg cacaccttcc catccgtcct gcagccgtca 180
gggctctact ccctcagcag catggtgacc gtgccggccc acagcttgtc cagcaagcgc 240
tatacgtgca atgtcaacca ccagccacc aaaaccaagg tggacctgtg tgttggacga 300
ccatgtccca tatgcccagg ctgtgaagtg gccggggcct cggcttcat cttccctcca 360
aaaccaagg acatcctcat gatctcccgg acccccaggg tcacgtgcgt ggtggtggac 420
gtcagcaagg agcacgccga ggtccagttc tcctggtacg tggacggcga agaggtgcac 480
acggccgaga cgaggccaaa ggaggagcag ttcaacagca cctaccgctg ggtcagcgtc 540
ctgcccattc agcacgagga ctggctgaag gggaaggagt tcgagtgcaa ggtcaacaac 600
gaagacctcc caggcccat cagcaggacc atctccaagg ccaaaggggt ggtacggagc 660
ccggaggtgt acacctgcc cccaccgcc gaggagctgt ccaagagcat agtcacgcta 720
acctgcctgg tcaaaagcat cttcccgntt ttcattcatg ttgagtggaa aatcaacgga 780
aaaccagagc cagagaacgc atatcgacc accccgcctc aggaggacga ggacaggacc 840
tacttcctgt acagcaagct cgcggtggac aaggcaagat gggaccatgg agaaacattt 900
gagtgtgcgg tgatgcacga ggctctgcac aaccactaca ccagaagtc catctccaag 960
actcagggta aatga 975

```

<210> 110

<211> 317

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 110

Ala Tyr Asn Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Cys Gly Arg

1 5 10 15

Asp Val Ser Asp His Asn Val Ala Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Trp Gly Ala Gln Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Thr Val Thr Val Pro Ala His Ser Leu Ser Ser Lys Cys
65 70 75 80

Phe Thr Cys Asn Val Asn His Pro Ala Thr Thr Thr Lys Val Asp Leu
85 90 95

Cys Val Gly Lys Lys Thr Lys Pro Arg Cys Pro Ile Cys Pro Gly Cys
100 105 110

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

Ile Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser Lys Glu His Ala Glu Val Gln Phe Ser Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Glu Glu Val His Thr Ala Glu Thr Arg Pro Lys Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gln His Glu Asp Trp
180 185 190

Leu Lys Gly Lys Glu Phe Glu Cys Lys Val Asn Asn Glu Asp Leu Pro
195 200 205

Gly Pro Ile Thr Arg Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Val Val Arg Ser
210 215 220

Pro Glu Val Tyr Thr Leu Pro Pro Pro Ala Glu Glu Leu Ser Lys Ser
225 230 235 240

Ile Val Thr Leu Thr Cys Leu Val Lys Ser Phe Phe Pro Pro Phe Ile

245 250 255
 His Val Glu Trp Lys Ile Asn Gly Lys Pro Glu Pro Glu Asn Ala Tyr
 260 265 270
 Arg Thr Thr Pro Pro Gln Glu Asp Glu Asp Gly Thr Tyr Phe Leu Tyr
 275 280 285
 Ser Lys Phe Ser Val Glu Lys Phe Arg Trp His Ser Gly Gly Ile His
 290 295 300
 Cys Ala Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315

<210> 111

<211> 952

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 111

gcctacaaca cagctccatc ggtctaccct ctggccccct gtggcaggga cgtgtctgat 60
 cataacgtgg ccttgggctg cctggtctca agctacttcc ccgagccagt gaccgtgacc 120
 tggaactggg gcgcccagac cagtggcgtg cacaccttcc catccgtcct gcagccgtca 180
 gggctctact ccctcagcag cacggtgacc gtgccggccc acagcttgctc cagcaagtgc 240
 ttcacgtgca atgtcaacca cccggccacc accaccaagg tggacctgtg tgttggaana 300
 aagaccaagc ctcatgttcc catatgcccga ggctgtgaag tggccggggc ctccgtcttc 360
 atcttccctc caaaacccaa ggacatcctc atgatctccc ggacccccga ggtcacgtgc 420
 gtggtggtgg acgtcagcaa ggagcacgcc gaggtccagt tctcctggta cgtggacggc 480
 gaagaggtgc acacggccga gacgagacca aaggaggagc agttcaacag cacttaccgc 540
 gtggtcagcg tcctgcccac ccagcacgag gactggctga aggggaagga gttcagtgct 600
 aaggtcaaca acgaagacct cccaggcccc atcacgagga ccatctccaa ggccaaaggg 660
 gtggtacgga gcccgagggt gtacaccctg cccccacccg ccgaggagct gtccaagagc 720
 atagtcacgc taacctgcct ggtcaaaaagc ttcttcccgc ctttcatcca tgttgagtgg 780
 aaaatcaacg gaaaaccaga gccagagaac gcataccgca ccaccccgcc ccaggaggac 840
 gaggacggga cctacttcct gtacagcaag ttctcggtgg aaaagttcag gtggcacagt 900

ggaggcatcc actgtgcggt gatgcacgag gctctgcaca accactacac cc

952

<210> 112

<211> 314

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 112

Ala Pro Lys Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Cys Gly Arg

1 5 10 15

Asp Thr Ser Gly Pro Asn Val Ala Leu Gly Cys Leu Ala Ser Ser Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Met Val Thr Val Pro Ala Ser Ser Leu Ser Ser Lys Ser

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Pro Ala Thr Thr Thr Lys Val Asp Leu

85 90 95

Cys Val Gly Arg Pro Cys Pro Ile Cys Pro Ala Cys Glu Gly Pro Gly

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

115 120 125

Ser Arg Thr Pro Gln Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu

130 135 140

Asn Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
145 150 155 160

Thr Ala Gln Thr Arg Pro Lys Glu Ala Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
165 170 175

Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gln His Glu Asp Trp Leu Lys Gly Lys
180 185 190

Glu Phe Glu Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Thr
195 200 205

Arg Ile Ile Ser Lys Ala Lys Gly Pro Ser Arg Glu Pro Gln Val Tyr
210 215 220

Thr Leu Ser Pro Ser Ala Glu Glu Leu Ser Arg Ser Lys Val Ser Ile
225 230 235 240

Thr Cys Leu Val Thr Gly Phe Tyr Pro Pro Asp Ile Asp Val Glu Trp
245 250 255

Lys Ser Asn Gly Gln Pro Glu Pro Glu Gly Asn Tyr Arg Thr Thr Pro
260 265 270

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

Val Asp Lys Ala Ser Trp Gln Arg Gly Asp Pro Phe Gln Cys Ala Val
290 295 300

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310

<210> 113

<211> 943

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 113

```

gcccccaaga cggccccatc ggtctaccct ctggccccct gcggcaggga cacgtctggc      60
cctaacgtgg ccttgggctg cctggcctca agctacttcc ccgagccagt gaccctgacc      120
tggaactcgg gcgccctgac cagtggcgtg cataccttcc catccgtcct gcagccgtca      180
gggctctact ccctcagcag catggtgacc gtgccggcca gcagcctgtc cagcaagagc      240
tacacctgca atgtcaacca cccggccacc accaccaagg tggacctgtg tgttggacga      300
ccatgtccca tatgcccagc ctgtgaaggg cccggggccct cggcttctcat cttccctcca      360
aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg acaccccagg tcacgtgcgt ggtggttagat      420
gtgagccagg aaaacccgga ggtccagttc tcctgggtatg tggacggtgt agaggtgcac      480
acggcccaga cgaggccaaa ggaggcgcag ttcaacagca cctaccgtgt ggtcagcgtc      540
ctgccccatcc agcacgagga ctggctgaag gggaaggagt tcgagtgcaa ggtcaacaac      600
aaagacctcc cagcccccat cacaaggatc atctccaagg ccaaagggcc gagccgggag      660
ccgcaggtgt acacctgtc cccatccgcc gaggagctgt ccaggagcaa agtcagcata      720
acctgcctgg tctactggctt ctaccacact gacatcgatg tcgagtggaa gagcaacgga      780
cagccggagc cagagggcaa ttaccgcacc accccgcccc agcaggacgt ggacgggacc      840
tacttcctgt acagcaagct cgcggtggac aaggccagct ggcagcgtgg agaccattc      900
cagtgtgcgg tgatgcacga ggctctgcac aaccactaca ccc                        943

```

<210> 114

<211> 320

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 114

Ala Pro Lys Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Cys Gly Arg

1 5 10 15

Asp Thr Ser Gly Pro Asn Val Ala Leu Gly Cys Leu Ala Ser Ser Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ser Val Leu Gln Pro Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Thr Val Thr Val Pro Ala Arg Ser Ser Ser Arg Lys Cys
65 70 75 80

Phe Thr Cys Asn Val Asn His Pro Ala Thr Thr Thr Lys Val Asp Leu
85 90 95

Cys Val Gly Arg Pro Cys Pro Ile Cys Pro Ala Cys Glu Gly Asn Gly
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
115 120 125

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
130 135 140

Asn Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Tyr Val Asp Gly Glu Glu Val His
145 150 155 160

Thr Ala Glu Thr Arg Pro Lys Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
165 170 175

Val Val Ser Val Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys
180 185 190

Glu Phe Glu Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Thr
195 200 205

Arg Ile Ile Ser Lys Ala Lys Gly Pro Ser Arg Glu Pro Gln Val Tyr
210 215 220

Thr Leu Ser Pro Ser Ala Glu Glu Leu Ser Arg Ser Lys Val Ser Ile
 225 230 235 240

Thr Cys Leu Val Thr Gly Phe Tyr Pro Pro Asp Ile Asp Val Glu Trp
 245 250 255

Lys Ser Asn Gly Gln Pro Glu Pro Glu Gly Asn Tyr Arg Ser Thr Pro
 260 265 270

Pro Gln Glu Asp Glu Asp Gly Thr Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Ala
 275 280 285

Val Asp Lys Ala Arg Leu Gln Ser Gly Gly Ile His Cys Ala Val Met
 290 295 300

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Ile Ser Lys Thr
 305 310 315 320

<210> 115

<211> 960

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 115

gcccccaaga cggccccatc ggtctaccct ctggccccct gcggcaggga cacgtctggc 60
 cctaacgtgg ccttgggctg cctggcctca agctacttcc ccgagccagt gaccgtgacc 120
 tggaaactcgg gcgccctgac cagtggcgtg cacaccttcc catccgtcct gcagccgtca 180
 gggctctact ccctcagcag cacggtgacc gtgccggcca ggagctcgtc cagaaagtgc 240
 ttcacgtgca atgtcaacca cccggccacc accaccaagg tggacctgtg tggtggacga 300
 ccatgtccca tatgcccagc ctgtgaaggg aacgggacct cggctttcat cttccctcca 360
 aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg acccccgagg tcacgtgcgt ggtggtagat 420
 gtgagccagg aaaaccgga ggtccagttc tcctggtacg tggacggcga agaggtgcac 480
 acggccgaga cgaggccaaa ggaggagcag ttcaacagca cctaccgtgt ggtcagcgtc 540
 ctgccccatcc agcaccagga ctggctgaag ggaaaggagt tcgagtcaa ggtcaacaac 600
 aaagacctcc cagcccccat cacaaggatc atctccaagg ccaaagggcc gagccgggag 660

ccgcaggtgt acaccctgtc cccatccgcc gaggagctgt ccaggagcaa agtcagcata 720
 acctgcctgg tcactggctt ctaccacct gacatcgatg tcgagtggaa gagcaacgga 780
 cagccggagc cagagggcaa ttaccgctcc accccgcccc aggaggacga ggacgggacc 840
 tacttcctgt acagcaaact cgcggtggac aaggcgaggt tgcagagtgg aggcattccac 900
 tgtgcggtga tgcacgaggc tctgcacaac cactacaccc agaagtccat ctccaagact 960

<210> 116

<211> 105

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 116

Gln Pro Lys Ser Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Thr Glu
 1 5 10 15

Glu Leu Ser Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
 20 25 30

Tyr Pro Gly Ser Met Thr Val Ala Arg Lys Ala Asp Gly Ser Thr Ile
 35 40 45

Thr Arg Asn Val Glu Thr Thr Arg Ala Ser Lys Gln Ser Asn Ser Lys
 50 55 60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Gly Ser Glu Trp Lys Ser
 65 70 75 80

Lys Gly Ser Tyr Ser Cys Glu Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Thr
 85 90 95

Lys Thr Val Lys Pro Ser Glu Cys Ser
 100 105

<210> 117

<211> 318

173

100 105 110
Val Asp Asp Val Glu Val Asn Thr Ala Arg Thr Lys Pro Arg Glu Glu
115 120 125
Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
130 135 140
Asn Asp Trp Thr Gly Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Tyr Asn Glu
145 150 155 160
Gly Leu Pro Ala Pro Ile Val Arg Thr Ile Ser Arg Thr Lys Gly Gln
165 170 175
Ala Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Ala Pro Pro Gln Asp Glu Leu
180 185 190
Ser Lys Ser Thr Val Ser Ile Thr Cys Met Val Thr Gly Phe Tyr Pro
195 200 205
Asp Tyr Ile Ala Val Glu Trp Gln Lys Asp Gly Gln Pro Glu Ser Glu
210 215 220
Asp Lys Tyr Gly Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr
225 230 235 240
Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Arg Val Asn Lys Asn Ser Trp Gln Glu Gly
245 250 255
Gly Ala Tyr Thr Cys Val Val Met His Glu
260 265
<210> 119
<211> 801

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 119

```

gagcggcgtg cacaccttcc cggccgtcct tcagtcctcc gggctctact ctctcagcag      60
cacggtgacc gcgcccgcga gcgccacaaa aagccagacc ttcacctgca acgtagccca      120
cccggccagc agcaccaagg tggacaaggc tgttggttccc ccatgcagac cgaaaccctg      180
tgattgctgc ccaccccctg agctccccgg aggaccctct gtcttcatct tcccacaaaa      240
accaaggac accctcaca tctctggaac tcctgagggtc acgtgtgtgg tgggtggacgt      300
gggccacgat gaccccgagg tgaagttctc ctggttcgtg gacgatgtgg aggtaaacac      360
agccaggacg aagccaagag aggagcagtt caacagcacc taccgcgtgg tcagcgcctt      420
gcccattccag cacaacgact ggactggagg aaaggagtgc aagtgcagg tctacaatga      480
aggcctccca gccccatcg tgaggacat ctccaggacc aaagggcagg cccggggagcc      540
gcaggtgtac gtcctggccc caccacagga cgagctcagc aaaagcacgg tcagcatcac      600
ttgcatgggtc actggcttct acccagacta catcgccgta gagtggcaga aagatgggca      660
gcctgagtca gaggacaaat atggcacgac cccgccccag ctggacagcg atggctccta      720
cttcctgtac agcaggctca ggggtgaaca gaacagctgg caagaaggag gcgcctacac      780
gtgtgtagtg atgcatgagg c                                     801

```

<210> 120

<211> 309

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 120

Ala Ser Ile Thr Ala Pro Lys Val Tyr Pro Leu Thr Ser Cys Arg Gly

1 5 10 15

Glu Thr Ser Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr

20 25 30

Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Lys Ser

35 40 45

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

50 55 60

Leu Ser Ser Thr Val Thr Ala Pro Ala Ser Ala Thr Lys Ser Gln Thr
65 70 75 80

Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Thr
85 90 95

Ala Val Gly Phe Ser Ser Asp Cys Cys Lys Phe Pro Lys Pro Cys Val
100 105 110

Arg Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
115 120 125

Met Ile Thr Gly Asn Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Gly
130 135 140

Arg Asp Asn Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Gly Asp Val Glu
145 150 155 160

Val His Thr Gly Arg Ser Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
165 170 175

Tyr Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Gln His Asn Asp Trp Thr Gly
180 185 190

Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
195 200 205

Ile Val Arg Thr Ile Ser Arg Thr Lys Gly Gln Ala Arg Glu Pro Gln
210 215 220

Val Tyr Val Leu Ala Pro Pro Gln Glu Glu Leu Ser Lys Ser Thr Val
225 230 235 240

Ser Val Thr Cys Met Val Thr Gly Phe Tyr Pro Asp Tyr Ile Ala Val

245

250

255

Glu Trp His Arg Asp Arg Gln Ala Glu Ser Glu Asp Lys Tyr Arg Thr

260

265

270

Thr Pro Pro Gln Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Arg

275

280

285

Leu Lys Val Asn Lys Asn Ser Trp Gln Glu Gly Gly Ala Tyr Thr Cys

290

295

300

Val Val Met His Glu

305

<210> 121

<211> 929

<212> ADN

<213> Bubalus arnee

<400> 121

gcctccatca cagccccgaa agtctaccct ctgacttctt gccgcgggga aacgtccagc	60
tccaccgtga ccctgggctg cctgggtctcc agctacatgc ccgagccggt gaccgtgacc	120
tggaactcgg gtgccctgaa gagcggcgtg cacaccttcc cggccgtcct tcagtcctct	180
gggctctact ctctcagcag cacgggtgacc gcgcccgcga gcgccacaaa aagccagacc	240
ttcacctgca acgtagccca cccggccagc agcaccaagg tggacacggc tgttgggttc	300
tccagtgact gctgcaagtt tcctaagcct tgttgtgagg gaccatctgt cttcatcttc	360
ccgccgaaac ccaaagacac cctgatgata acaggaaatc ccgaggtcac atgtgtggtg	420
gtggacgtgg gccgggataa ccccgaggtg cagttctcct ggttcgtggg tgatgtggag	480
gtgcacacgg gcaggtcgaa gccgagagag gagcagttca acagcaccta ccgcgtggtc	540
agcaccttgc ccatccagca caatgactgg actggaggaa aggagttcaa gtgcaaggtc	600
aacaacaaag gcctcccagc ccccatcgtg aggaccatct ccaggaccaa agggcaggcc	660
cgggagccgc aggtgtacgt cctggcccca cccaggaag agctcagcaa aagcacggtc	720
agcgtcactt gcatggtcac tggcttctac ccagactaca tcgccgtaga gtggcataga	780
gaccggcagg ctgagtcgga ggacaagtac cgcacgaccc cgccccagct ggacagcgat	840

ggctcctact tcctgtacag caggctcaag gtgaacaaga acagctggca agaaggaggc 900
gcctacacgt gtgtagtgat gcatgaggc 929

<210> 122

<211> 352

<212> PRT

<213> Bubalus arnee

<400> 122

Ala Ser Thr Thr Ala Pro Lys Val Tyr Pro Leu Ala Ser Ser Cys Gly
1 5 10 15

Asp Thr Ser Ser Ser Thr Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Met Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ala Leu Lys Asn
35 40 45

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

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

Phe Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Thr
85 90 95

Ala Val Thr Ala Arg His Pro Val Pro Lys Thr Pro Glu Thr Pro Ile
100 105 110

His Pro Val Lys Pro Pro Thr Gln Glu Pro Arg Asp Glu Lys Thr Pro
115 120 125

Cys Gln Cys Pro Lys Cys Pro Glu Pro Leu Gly Gly Leu Ser Val Phe
130 135 140

Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Pro
145 150 155 160

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Gly Gln Asp Asp Pro Glu Val
165 170 175

Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Arg Met
180 185 190

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Ala
195 200 205

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Leu Arg Glu Lys Glu Phe Lys Cys
210 215 220

Lys Val Asn Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Val Arg Thr Ile Ser
225 230 235 240

Arg Thr Lys Gly Gln Ala Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Ala Pro
245 250 255

Pro Arg Glu Glu Leu Ser Lys Ser Thr Leu Ser Leu Thr Cys Leu Ile
260 265 270

Thr Gly Phe Tyr Pro Glu Glu Val Asp Val Glu Trp Gln Arg Asn Gly
275 280 285

Gln Pro Glu Ser Glu Asp Lys Tyr His Thr Thr Pro Pro Gln Leu Asp
290 295 300

Ala Asp Gly Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Arg Val Asn Arg Ser
305 310 315 320

Ser Trp Gln Glu Gly Asp His Tyr Thr Cys Ala Val Met His Glu Ala

325

330

335

Leu Arg Asn His Tyr Lys Glu Lys Pro Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys

340

345

350

<210> 123

<211> 1059

<212> ADN

<213> Bubalus bubalis

<400> 123

gcctccacca cagccccgaa agtctaccct ctggcatcca gctgcgggga cacgtccagc	60
tccaccgtga ccctgggctg cctgggtctcc agctacatgc ccgagccggt gaccgtgacc	120
tggaactcgg gtgccctgaa gaacggcgtg cacaccttcc cggccgtccg gcagtcctcc	180
gggctctact ctctcagcag catggtgacc atggccacca gcaccgcagg aaccagacc	240
ttcacctgca acgtagccca cccggccagc agcaccaagg tggacacggc tgtcactgca	300
aggcatccgg tcccgaagac accagagaca cctatccatc ctgtaaaacc cccaaccag	360
gagcccagag atgaaaagac accctgccag tgtcccaaatt gcccagaacc tctgggagga	420
ctgtctgtct tcattttccc accgaaaccc aaggacaccc tcacaatttc tggaacgccc	480
gaggtcacgt gtgtgggtgt ggacgtgggc caggatgacc ccgaagtgc gttctcctgg	540
ttcgtggatg acgtggaggt gcacacagcc aggatgaagc caagagagga gcagttcaac	600
agcacctacc gcgtgggtcag cgccctgccc atccagcacc aggactggct gcgggaaaag	660
gagttcaagt gcaagggtcaa caacaaaggc ctcccggccc ccatcgtgag gaccatctcc	720
aggaccaaag ggcaggcccg ggagccacag gtgtatgtcc tggccccacc ccgggaagag	780
ctcagcaaaa gcacgtcag cctcacctgc ctaatcaccg gcttctaccc agaagaggta	840
gacgtggagt ggcagagaaa tgggcagcct gactcagagg acaagtacca cagacccca	900
ccccagctgg acgtgacgg ctctacttcc ctgtacagca ggctcagggt gaacaggagc	960
agctggcagg aaggagacca ctacacgtgt gcagtgatgc atgaagcttt acggaatcac	1020
tacaaagaga agcccatctc gaggtctccg ggtaaatga	1059

<210> 124

<211> 35

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> mỗi

<400> 124

ctagctagca ccatgaggat atatagtgtc ttaac

35

<210> 125

<211> 31

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> mỗi

<400> 125

caatctcgag ttacagacag aagatgactg c

31

Fig. 1

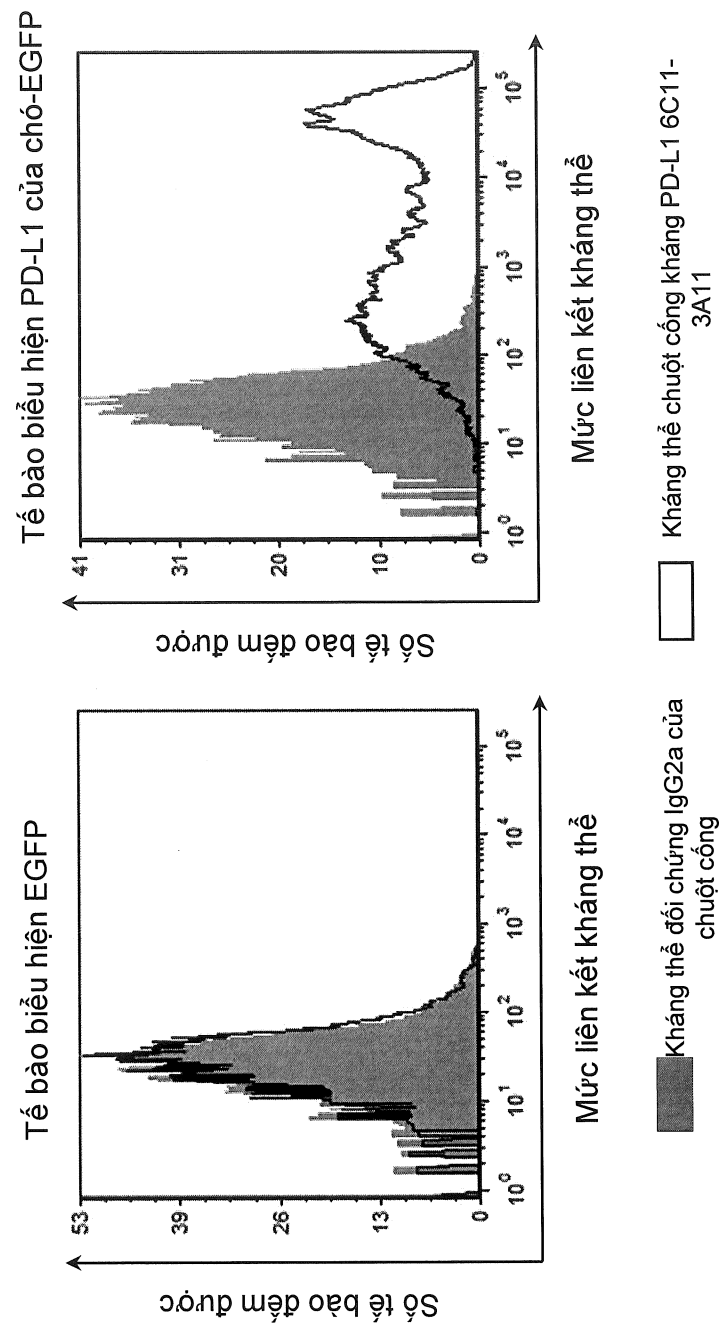


Fig. 2

CDR1
CDR2
CDR3

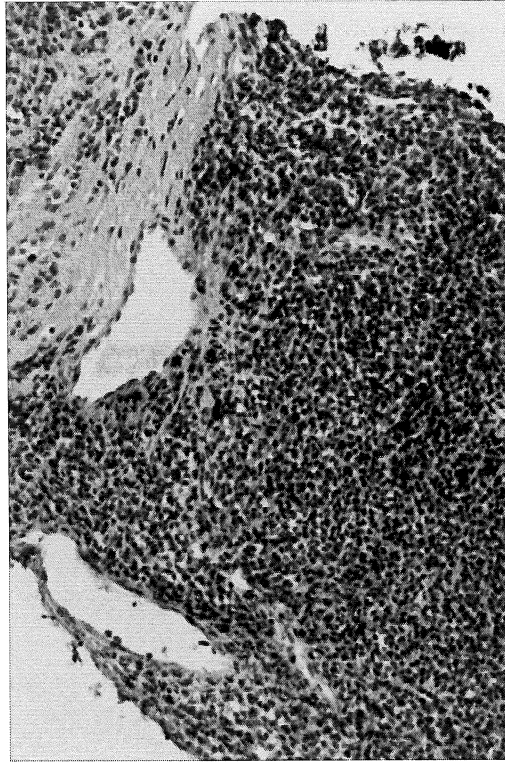
Vùng biến đổi của chuỗi nhẹ

MRVQIQFWGLLLLTSGIQCDVQMTQSPSNLAASPGESVSINCKASKSISKYLAWYQ
QKPGKANKLLIYSGSTLQSGTPSRFRFSGSGGTDFTLTIRNLEPEDFGLYQCQQHNEY
PLTFGSGTKLEIK

Vùng biến đổi của chuỗi nặng

MGWICIIIFLVAIATGAHSQVKLLQSGAALVKPGDSVKMSCKASGYTFTDYIIHWVKQ
SHGKSLEWIGYINPDGGNNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMEFSLTSEDSAIYYC
ARGITMMVVISHWKFDVFWGPGTMVTVSS

Fig. 3

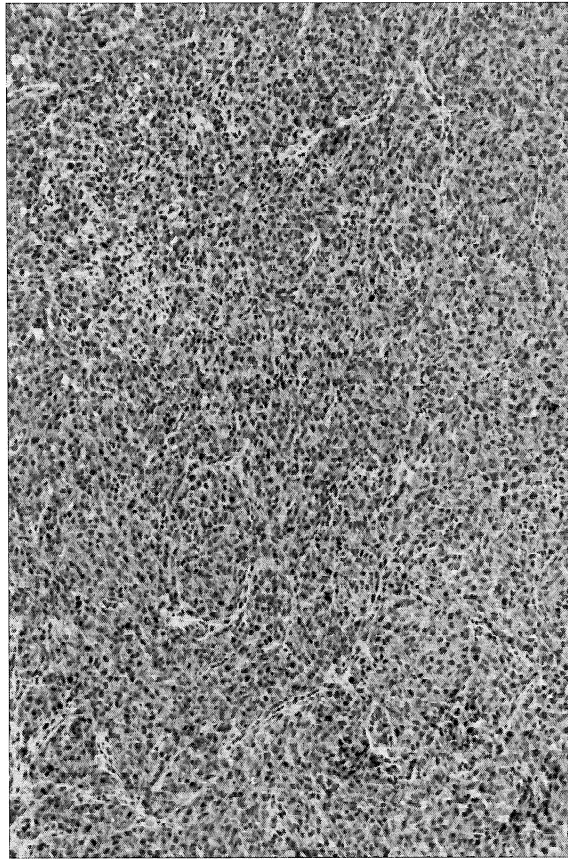


Kháng thể thương mại (kháng
thể MelanA)



Kháng thể chuột chống kháng PD-L1
của bò

Fig. 4

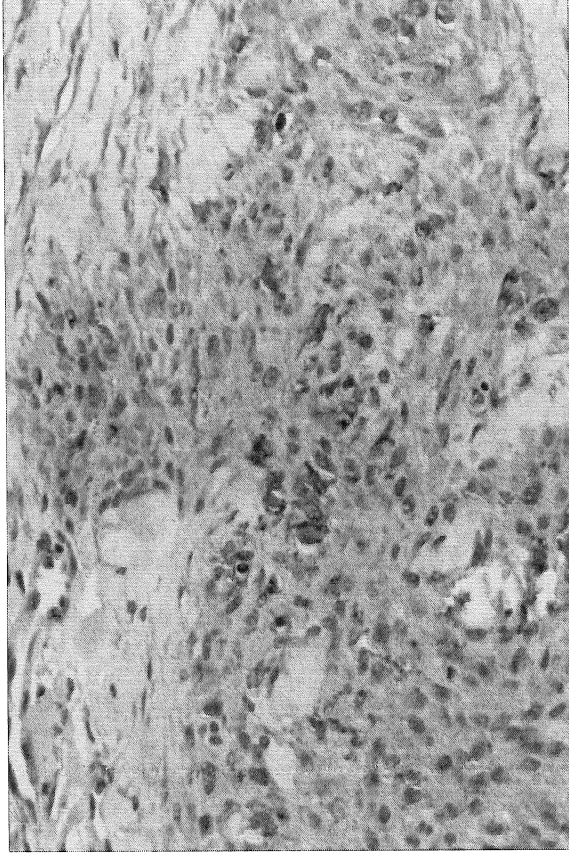


Trường hợp u hắc sắc tố ở chó

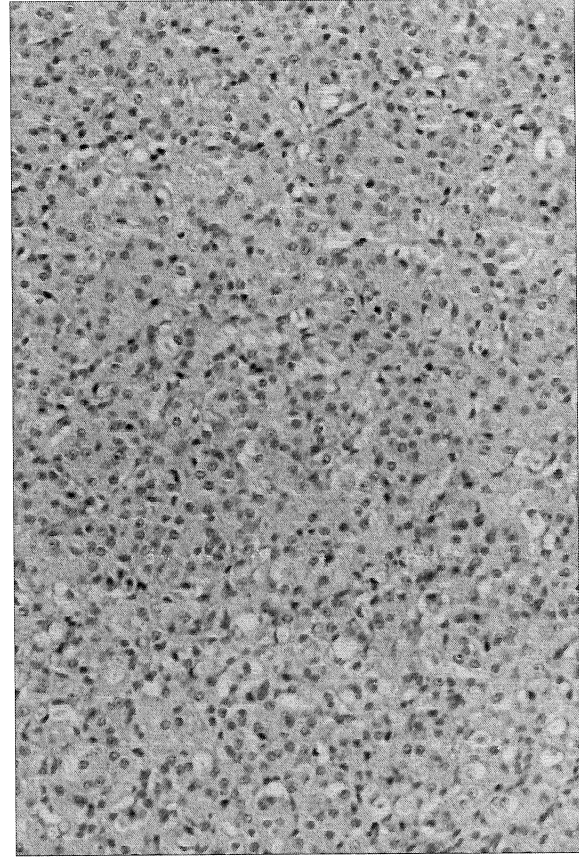
Fig. 5-1



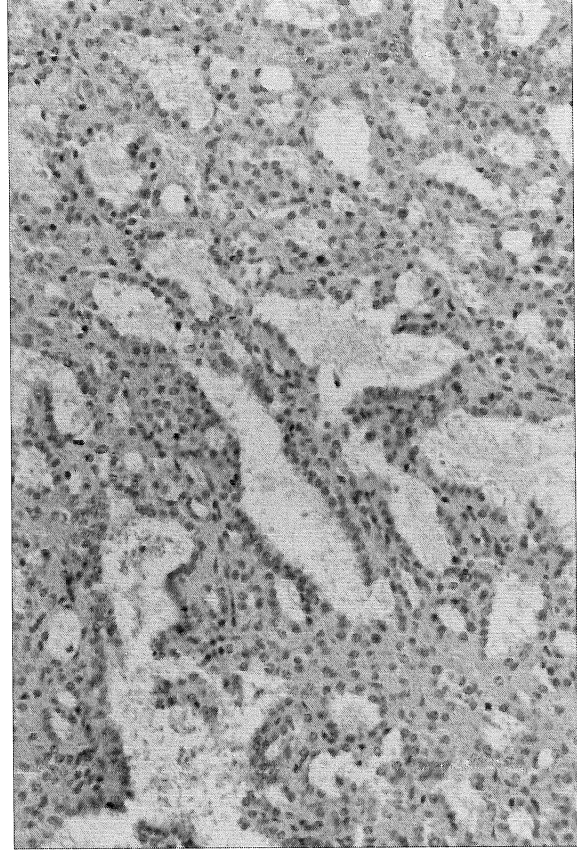
Trường hợp u lympho ở chó



Trường hợp bệnh ung thư mô liên kết xương ở chó

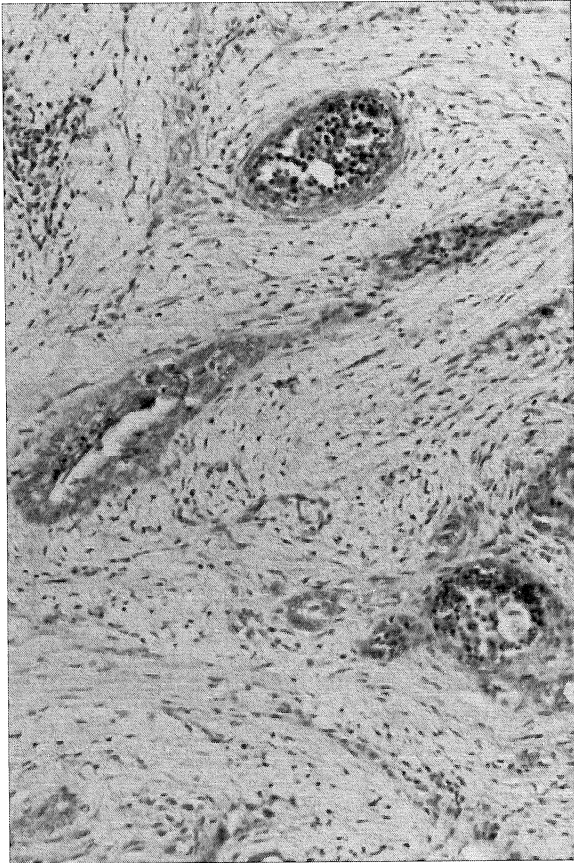


Trường hợp 1 của bệnh ung thư biểu mô tế bào thận chó

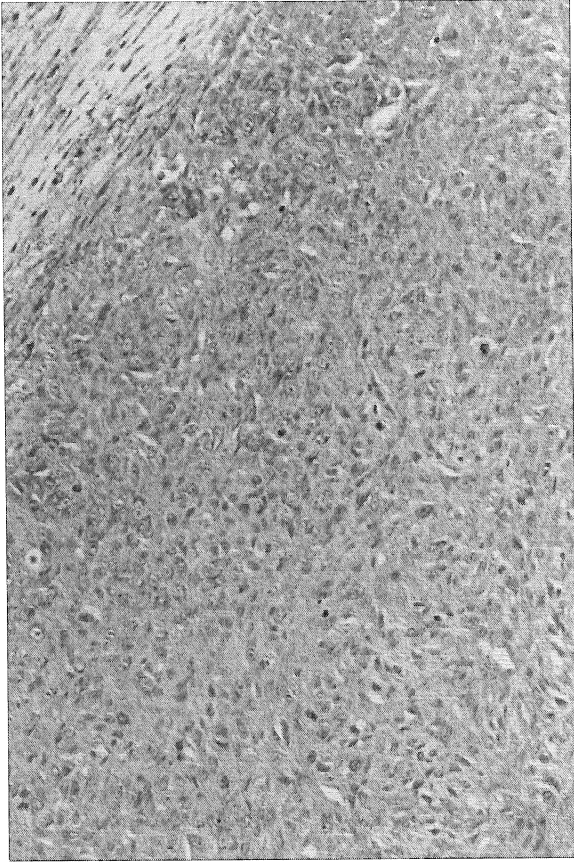


Trường hợp 2 của bệnh ung thư biểu mô tế bào thận chó

Fig. 5-2

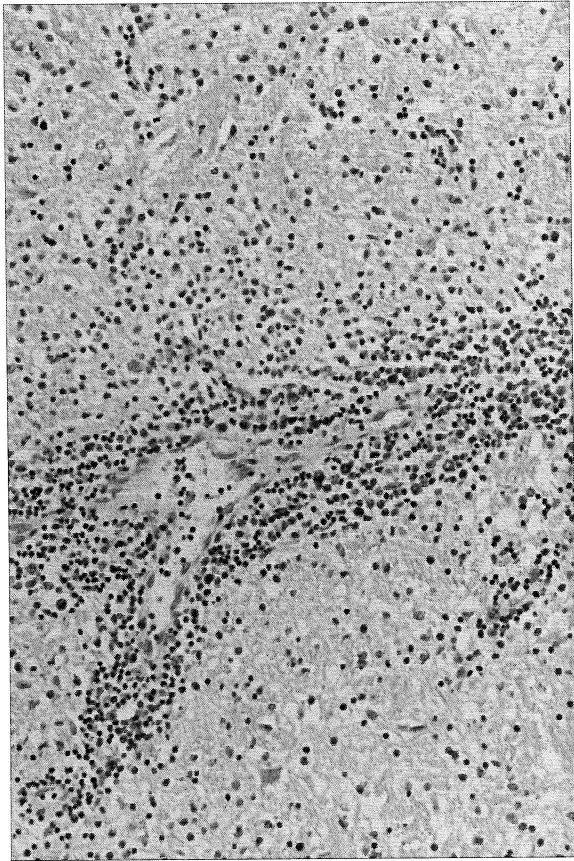


Trường hợp bệnh ung thư biểu mô tế bào vảy ở chó

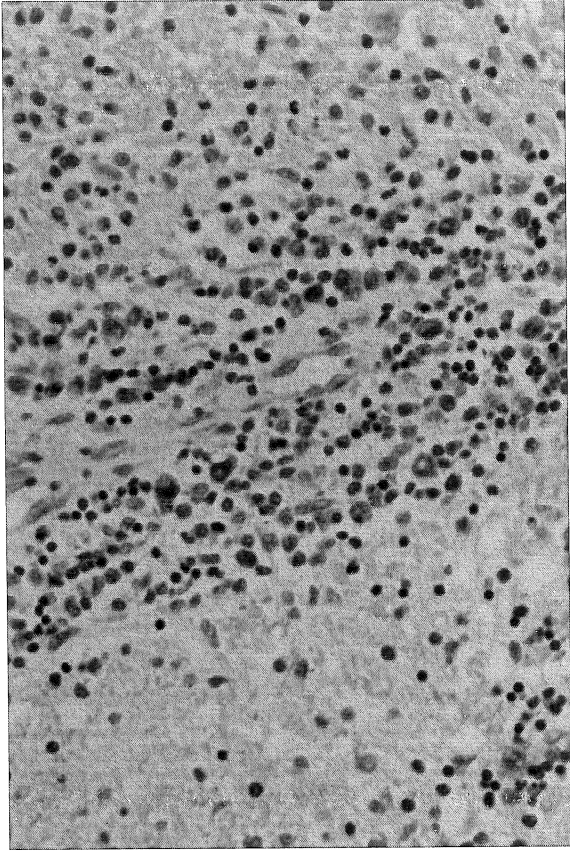


Trường hợp bệnh ung thư mô liên kết sợi ở chó

Fig. 6

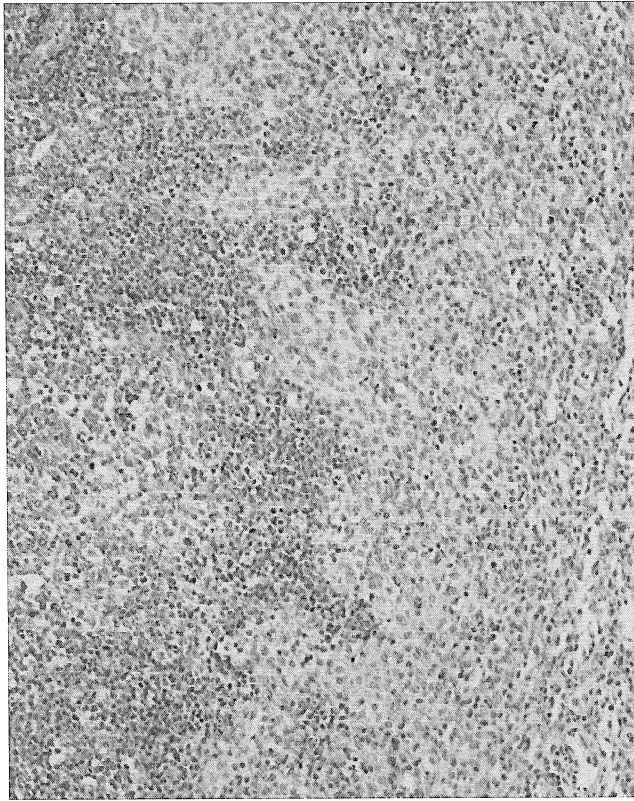


Trường hợp bệnh do Listeria ở cừu

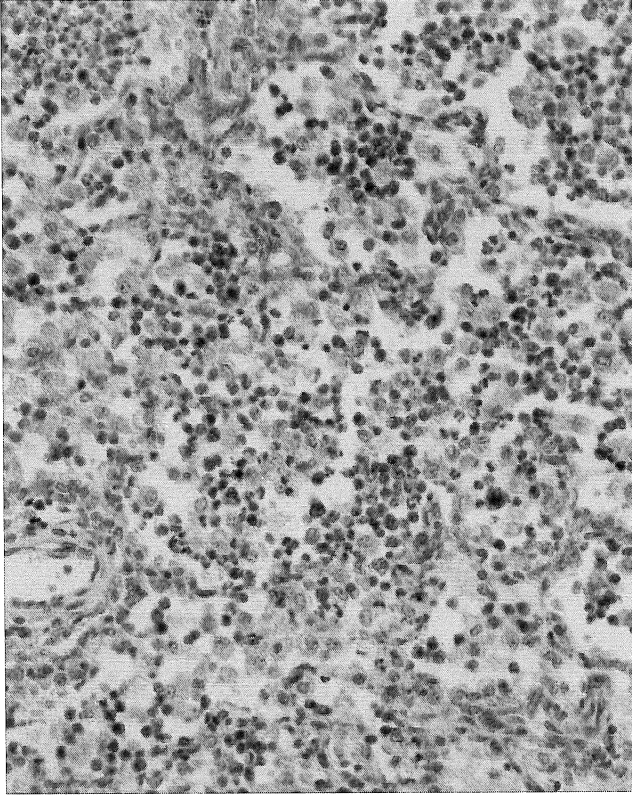


Ảnh chụp phóng to của ảnh hiển vi bên trái

Fig. 7



Bệnh nhiễm Circovirut typ 2 ở lợn



Bệnh viêm phổi do Mycoplasma ở lợn

۸۵۰

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Fig. 9

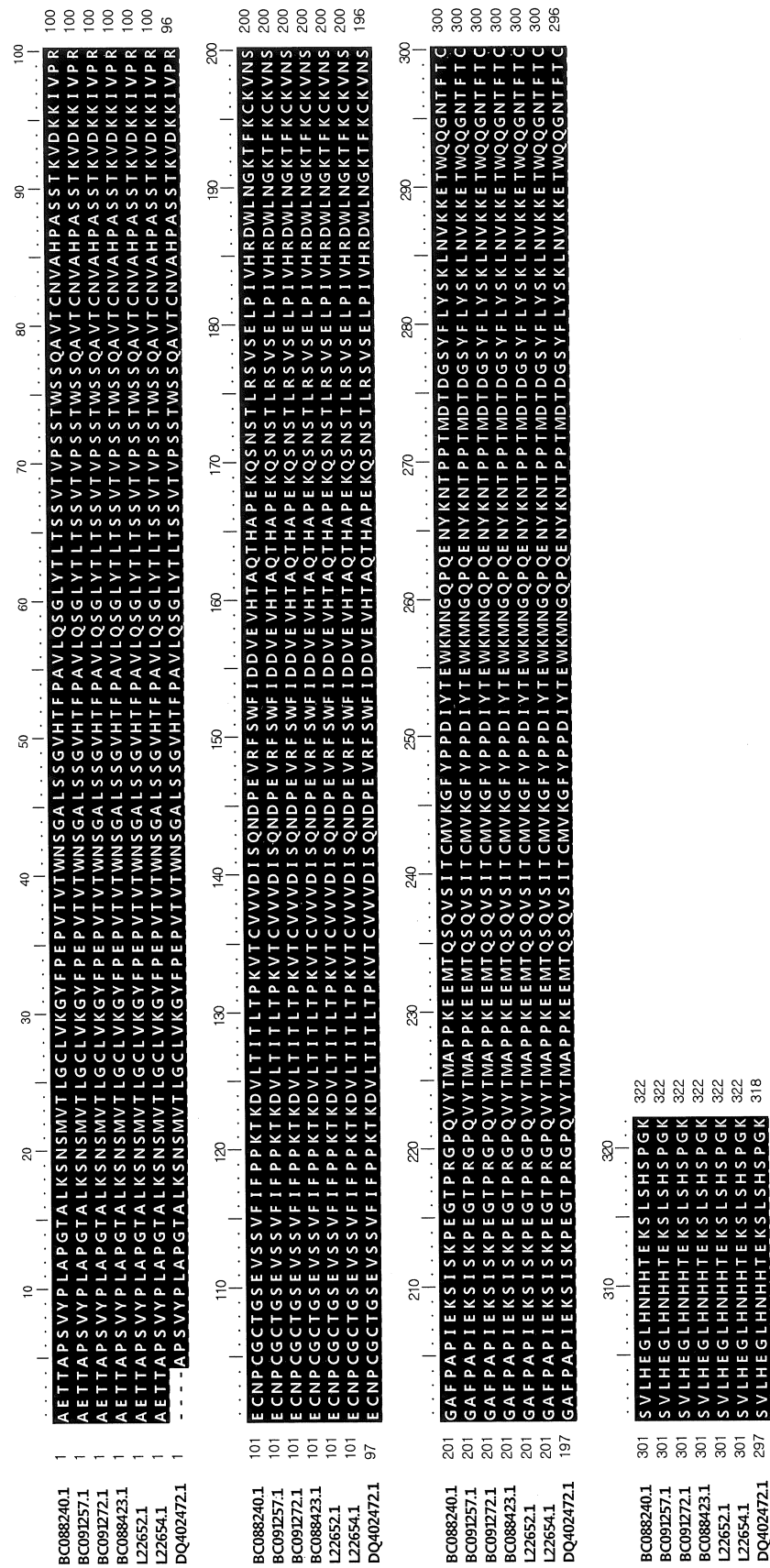


Fig. 11

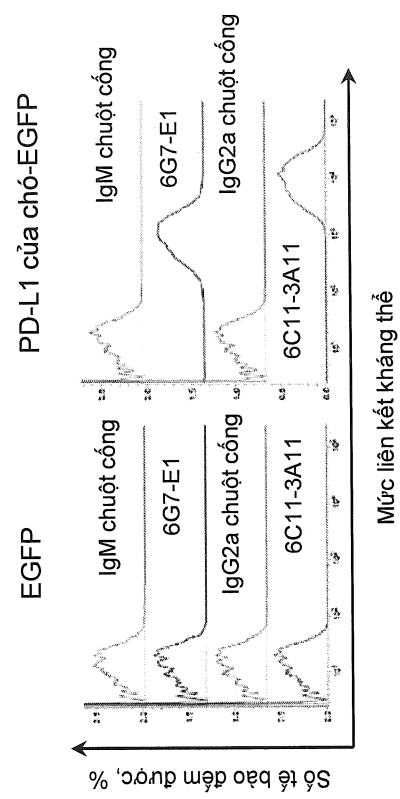


Fig. 12

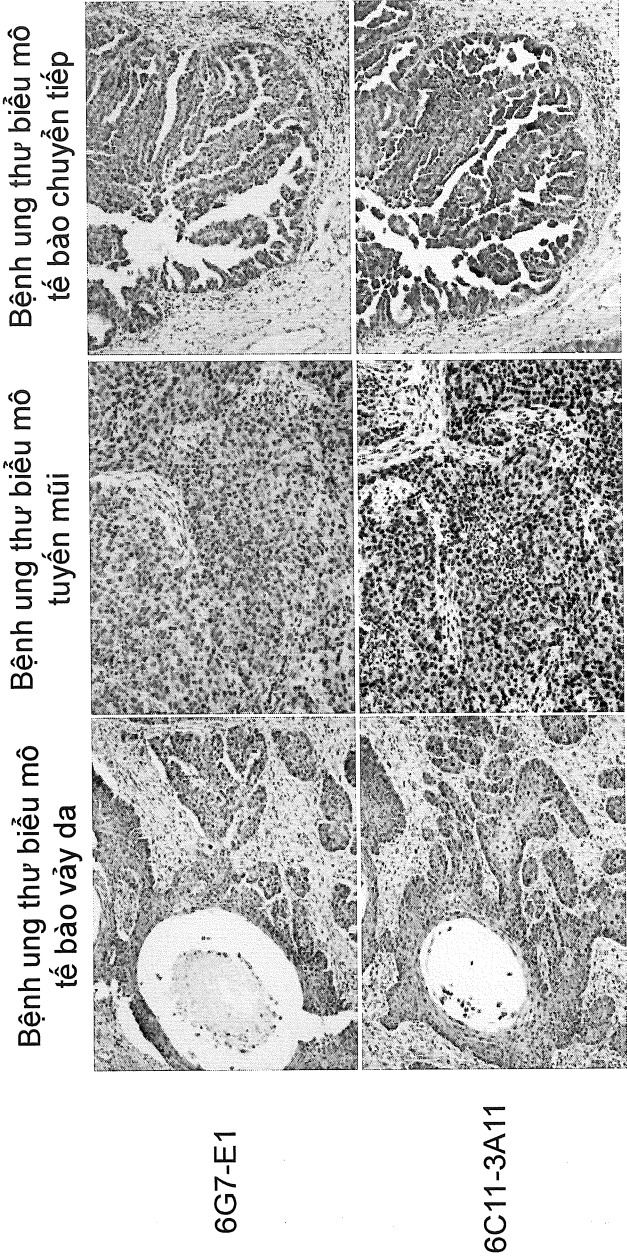


Fig. 13

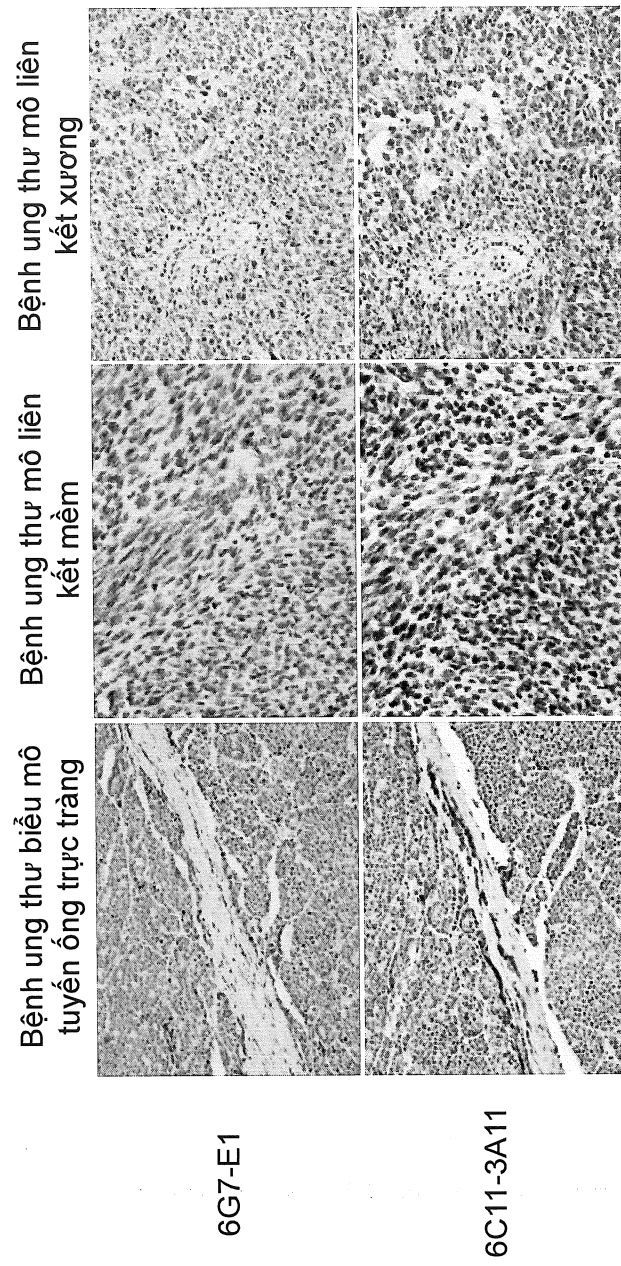


Fig. 14

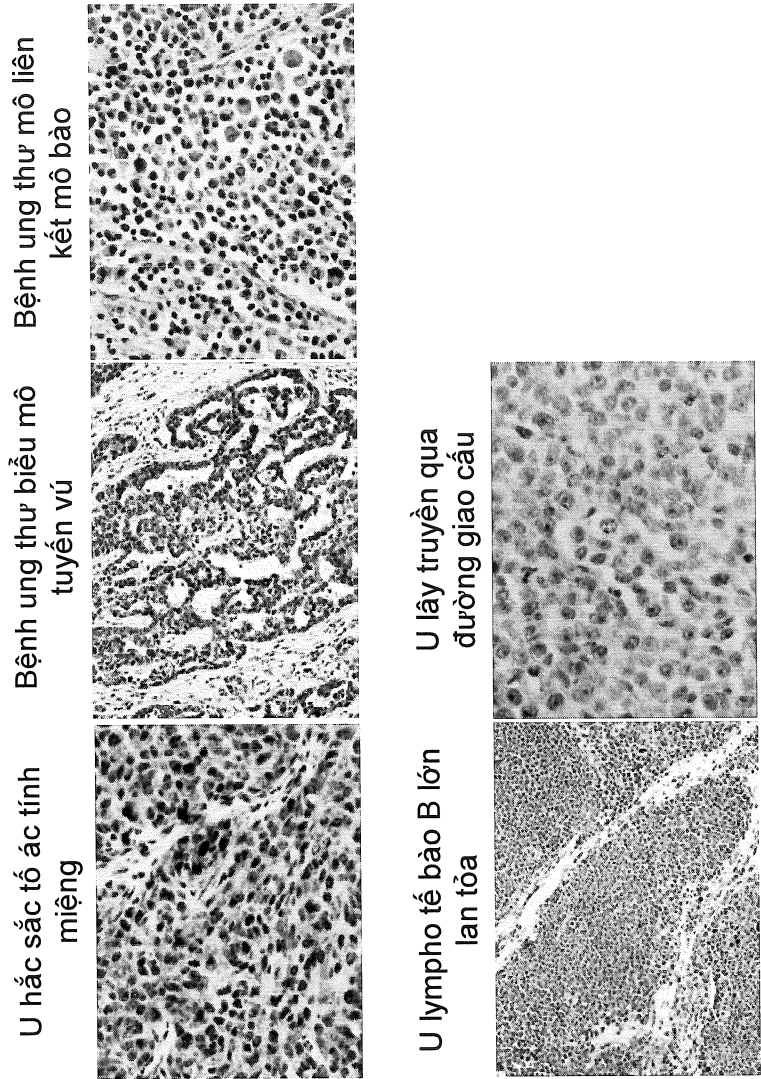


Fig. 15

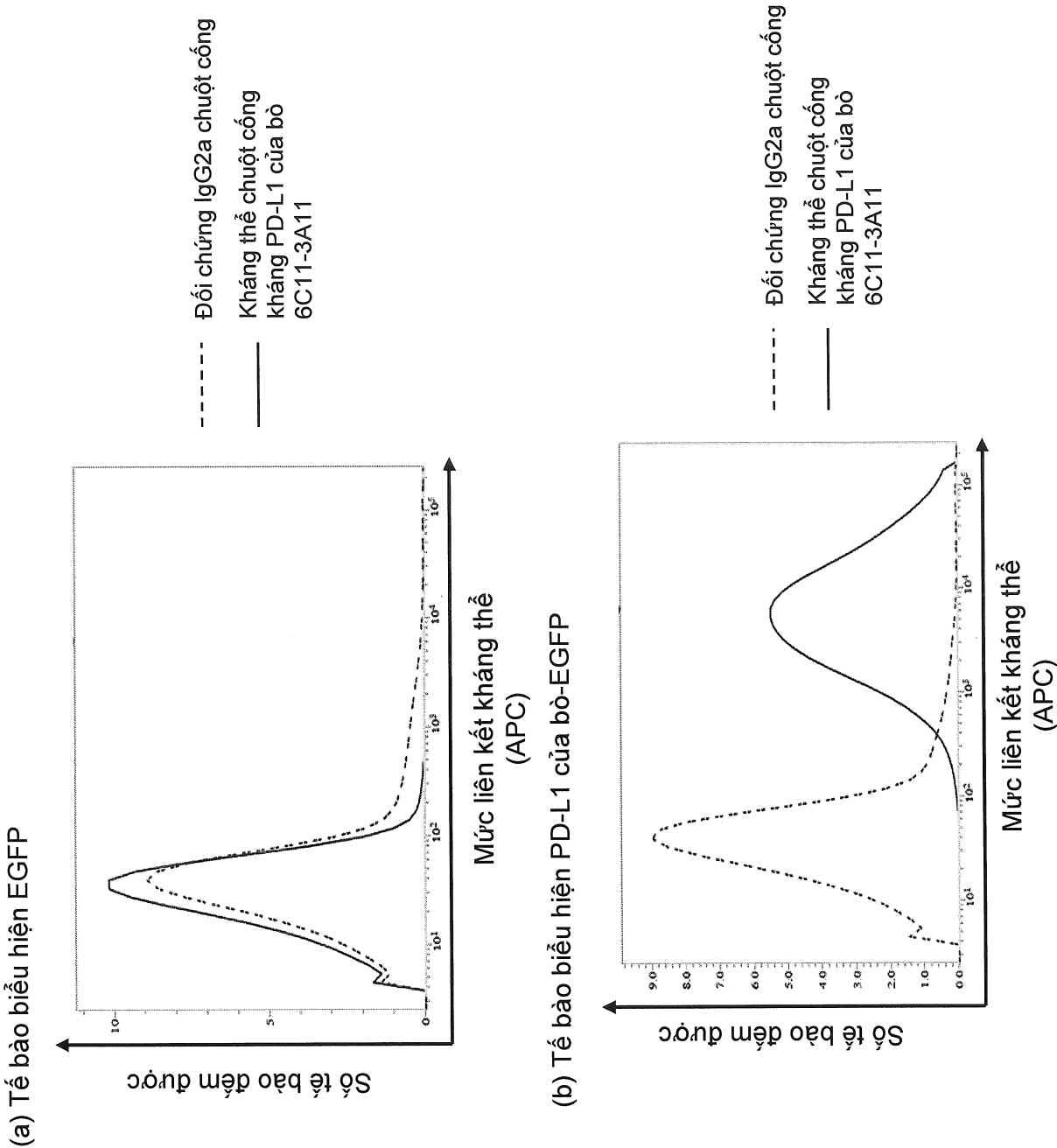


Fig. 16

