(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) **1-0047442**

(51)[2020.01] **C12N 9/72**; A61K 38/49; C12N 15/62; A61K 38/48; C12N 15/52

(13) **B**

(21) 1-2021-04647
(22) 27/12/2019
(86) PCT/US2019/068839 27/12/2019
(87) WO2020/140101 02/07/2020
(30) 62/786,302 28/12/2018 US
(45) 25/06/2025 447
(43) 25/01/2022 406A
(73) Vertex Pharmaceuticals Incorporated (US)
50 Northern Avenue Boston, MA 02210, United States of America
(72) MADISON, Edwin, L. (US); THANOS, Christopher (US); SOROS, Vanessa (US); POPKOV, Mikhail (US); TIPTON, Kimberly (US); TRAYLOR, Matthew, John (US); FURFINE, Eric, Steven (US); WAY, Jeffrey, Charles (US).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) POLYPEPTIT HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA BIẾN ĐỔI VÀ PROTEIN DUNG HỢP BAO GỒM POLYPEPTIT NÀY

(21) 1-2021-04647

(57) Sáng chế đề xuất polypeptit u-PA và protein dung hợp chứa polypeptit u-PA. Polypeptit u-PA được biến đổi để có hoạt tính và/hoặc độ đặc hiệu biến đổi sao cho chúng phân cắt protein bổ thể, như protein bổ thể C3, để từ đó ức chế hoạt hóa bổ thể. Polypeptit u-PA biến đổi và protein dung hợp mà ức chế hoạt hóa bổ thể có thể được sử dụng để điều trị bệnh và tình trạng bệnh mà được trung gian bởi hoạt hóa bổ thể, hoặc trong đó hoạt hóa bổ thể đóng vai trò. Các rối loạn này bao gồm rối loạn thiếu máu cục bộ và tái đẩy máu, bao gồm nhồi máu cơ tim và đột quỵ, nhiễm trùng huyết, bệnh tự miễn dịch, bệnh võng mạc do tiểu đường, thoái hóa điểm vàng do tuổi tác, thải cơ quan ghép, bệnh viêm và bệnh có thành phần viêm.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất polypeptit u-PA biến đổi mà phân cắt protein bổ thể, từ đó, ức chế việc hoạt hóa bổ thể. Do việc ức chế này polypeptit u-PA biến đổi có thể được sử dụng để điều trị bệnh và tình trạng bệnh trung gian bởi bổ thể hoặc trong đó việc hoạt hóa bổ thể đóng vai trò. Các bệnh và tình trạng bệnh này, bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, chỉ định nhãn khoa, bao gồm thoái hóa điểm vàng, như thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD) và bệnh Stargardt, chức năng ghép thận bị trì hoãn (DGF), rối loạn thiếu máu cục bộ và tái tưới máu, bao gồm nhồi máu cơ tim và đột quỵ, nhiễm trùng huyết, bệnh tự miễn dịch, bệnh viêm và bệnh có thành phần viêm, bao gồm bệnh Alzheimer và các rối loạn thoái hóa thần kinh khác.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hệ thống bổ thể (C) là một phần của hệ thống miễn dịch và đóng vai trò trong việc loại bỏ chất gây bệnh xâm chiếm và bắt đầu đáp ứng viêm. Hệ thống bổ thể của người và các động vật có vú khác liên quan đến hơn 30 protein liên kết với màng và tan được mà tham gia vào trình tự trật tự của phản ứng thu được ở hoạt hóa bổ thể. Hệ thống bổ thể máu có mảng chức năng rộng kết hợp với phổ rộng của cơ chế bảo vệ vật chủ bao gồm các hành động chống vi khuẩn và chống vi rút. Sản phẩm có nguồn gốc từ việc hoạt hóa thành phần C bao gồm phân tử không tự nhận C3b, C4b và C5b, cũng như anaphylatoxin C3a, C4a và C5a ảnh hưởng đến nhiều đáp ứng miễn dịch tế bào. Các anaphylatoxin này cũng hoạt động như chất gây viêm.

Hệ thống bổ thể bao gồm mảng enzym và protein và thụ thể không có tính enzym. Hoạt hóa bổ thể xảy ra bằng một trong ba kiểu sơ cấp được biết là con đường "cổ điển", con đường "thay thế" và con đường "lectin" (xem FIG. 1). Bổ thể thường được hoạt hóa hoặc được hoạt hóa bởi 1 trong 3 con đường này, như được thể hiện trên FIG. 1, hội tụ tại quá trình hoạt hóa C3. Trong cơ chế hoạt hóa bổ thể thứ tư, được gọi là con đường nội tại, proteaza serin liên quan đến dòng chảy đông máu/tiêu sợi huyết hoạt hóa hệ thống bổ thể trực tiếp thông qua sự phân cắt C3 hoặc C5, độc lập với cơ chế cổ điển, thay thế và con đường lectin.

Các con đường này có thể được phân biệt bởi quá trình bắt đầu hoạt hóa bổ thể. Con đường cổ điển được bắt đầu bởi phức hợp kháng thể-kháng nguyên hoặc dạng tổng hợp của globulin miễn dịch; con đường thay thế được bắt đầu bằng việc nhận biết cấu trúc trên bề mặt vi sinh vật và tế bào; và con đường lectin, là con đường độc lập với kháng thể, được bắt đầu bằng cách liên kết lectin liên kết mannan (MBL, cũng được chỉ định là protein liên kết mannoza) với hydrat cacbon như các chất được hiển thị trên bề mặt của vi khuẩn hoặc virút. Việc hoạt hóa tầng dẫn đến tạo ra phức hợp tham gia vào quá trình phân giải protein hoặc ly giải tế bào và peptit liên quan đến quá trình opso hóa, anaphylatoxin và phản ứng hóa học.

Tầng bổ thể, là thành phần trung tâm đáp ứng miễn dịch của động vật, là dòng tầng không thể đảo ngược. Nhiều yếu tố đồng yếu tố protein điều chỉnh quá trình này. Quy định không phù hợp, thường là hoạt hóa không thích hợp, của quá trình có thể là một khía cạnh hoặc có thể xảy ra trong nhiều rối loạn liên quan đến đáp ứng viêm và miễn dịch không phù hợp, như các bệnh được quan sát thấy trong bệnh viêm cấp tính và mãn tính và các tình trạng khác liên quan đến đáp ứng miễn dịch không phù hợp. Các bệnh và rối loạn này bao gồm bệnh tự miễn, như viêm khớp dạng thấp và luput, rối loạn tim và các bệnh viêm khác, như nhiễm trùng huyết và chấn thương do thiếu máu cục bộ tái tưới máu.

Vì sự tham gia của con đường bổ thể trong nhiều loại bệnh và tình trạng, thành phần của con đường bổ thể là đích để can thiệp điều trị, đặc biệt là ức chế con đường này. Ví dụ về phương pháp điều trị này bao gồm phương pháp điều trị tổng hợp và phân tử nhỏ tự nhiên, chất ức chế kháng thể và dạng hòa tan tái tổ hợp của chất điều hòa bổ thể màng. Có hạn chế đối với chiến lược chuẩn bị liệu pháp này. Phân tử nhỏ có thời gian bán hủy *in vivo* ngắn và cần được truyền liên tục để duy trì sự ức chế bổ thể do đó hạn chế vai trò của chúng, đặc biệt trong bệnh mãn tính. Kháng thể trị liệu có thể tạo ra đáp ứng miễn dịch ở đối tượng, và do đó có thể dẫn đến biến chứng trong điều trị, đặc biệt là phương pháp điều trị được thiết kế để điều chỉnh đáp ứng miễn dịch. Do đó, tồn tại nhu cầu trị liệu để điều trị bệnh qua trung gian bổ thể và bệnh trong đó hoạt hóa bổ thể đóng vai trò. Chúng bao gồm bệnh viêm cấp tính và mãn tính. Do đó, trong số các đích trong bản mô tả này, đích là cung cấp phương pháp trị liệu này để nhắm đích hoạt hóa dòng bổ thể và cung cấp liệu pháp và phương pháp điều trị bệnh.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất polypeptit hoạt hóa plasminogen loại urokinaza (u-PA) biến đổi mà bao gồm chèn, loại bỏ và/hoặc thay thế axit amin ở miền proteaza mà dẫn đến hoạt tính phân cắt tăng ở protein bổ thể C3 so với miền proteaza u-PA kiểu dại (trong đó miền proteaza có thể bao gồm thay thế của Cys tự do bằng Ser để giảm/loại bỏ sự kết tụ). Polypeptit u-PA biến đổi là polypeptit bất kỳ mà chứa miền proteaza, như proteaza hoạt hóa chiều dài đầy đủ, dạng tiền enzym của chúng, và protein dung hợp chứa polypeptit u-PA biến đổi và đối tác dung hợp mang lại đặc tính hoặc hoạt tính dược lý. Polypeptit u-PA đã biến đổi và protein dung hợp chứa polypeptit u-PA đã biến đổi, khi ở dạng hoạt động, ức chế sự hoạt hóa bổ thể. Đặc biệt, các polypeptit và protein dung hợp này phân cắt C3, do đó hoạt tính của C3 bị ức chế hoặc loại bỏ.

Biến đổi, bao gồm loại bỏ, thay thế và chèn axit amin, được đề xuất trong bản mô tả này là ở miền proteaza. Polypeptit u-PA biến đổi bao gồm hoặc là miền proteaza. Polypeptit u-PA biến đổi còn có thể bao gồm sau dịch mã và các biến đổi khác để khác với trình tự axit amin sơ cấp, như tiếp hợp hoặc liên kết với các polypeptit và gốc khác mà biến đổi đặc tính, như thời gian bán thải huyết thanh, và kháng với proteaza nội sinh. Biến đổi này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, liên kết với albumin, liên kết với (các) miền multime hóa và PEGyl hóa. Do đó, polypeptit u-PA đã biến đổi, có thể được biến đổi bằng cách PEGyl hóa, albumin hóa, farnysyl hóa, carboxyl hóa, hydroxyl hóa, phosphoryl hóa, và các biến đổi polypeptit khác đã biết trong lĩnh vực này. Trong số các sửa đổi là việc thay thế xystein tự do, trong tiền enzym, như C122, bằng cách đánh số chymotrypsin, bằng serin hoặc alanin, để giảm sự kết tụ, đặc biệt là khi biểu hiện in vitro. Sự thay thế này là tùy chọn và không nhất thiết phải bao gồm trong các polypeptit được pegyl hóa hoặc được biểu hiện *in vivo*.

Polypeptit u-PA biến đổi làm bất hoạt protein bổ thể C3 bằng cách phân cắt. Polypeptit u-PA biến đổi phân cắt C3 để từ đó ức chế hoạt hóa bổ thể, chúng phân cắt C3 ở vị trí, như ở vị trí hoạt hóa, làm bất hoạt hoặc ức chế hoạt tính C3 để từ đó ức chế hoạt hóa bổ thể. Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này được chọn và được thiết kế để phân cắt trong QHARASHLG, và cụ thể là trong đó P1-P1' là RA (QHAR↓ASHL; xem SEQ ID NO:47 gốc 737-744, trong đó phân cắt nằm trong khoảng từ gốc 740 đến 741). Kết quả là, các polypeptit u-PA biến đổi này có thể được sử dụng như liệu pháp điều trị các rối loạn, bệnh tật và/hoặc tình trạng trong đó sự hoạt hóa bổ thể đóng vai trò sao cho việc ức chế chúng có thể điều trị rối loạn, bệnh tật và/hoặc tình

trạng. Polypeptit u-PA biến đổi cũng có thể làm giảm hoạt tính đối với cơ chất tự nhiên, như plasminogen, so với u-PA kiểu dại hoặc so với loại chỉ có sự thay thế tương ứng với C122S, bằng cách đánh số chymotrypsin.

Bệnh và tình trạng bệnh mà polypeptit u-PA biến đổi là bệnh và tình trạng bệnh trung gian hoặc có liên quan bổ thể hoặc trung gian C3 bất kỳ. Các bệnh và tình trạng bệnh này bao gồm rối loạn ở mắt, như thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi (AMD) và bệnh võng mạc tiểu đường, và đào thải cơ quan, như chức năng ghép thận bị trì hoãn (DGF) cũng như các bệnh, rối loạn và tình trạng khác có thể được điều trị bằng cách ức chế hoạt hóa bổ thể. AMD được điều trị bằng cách tiêm vào dịch thủy tinh, như bằng cách tiêm trong thực vật hoặc tiêm trong hoặc dưới màng não, và DGF được điều trị bằng cách tiêm tĩnh mạch hoặc đường toàn thân khác. Polypeptit u-PA và protein dung hợp có thể còn được sửa đổi, như bằng PEGyl hóa, để tăng cường hoặc cải thiện hoặc truyền đạt tính chất dược lý mong muốn, bao gồm tăng thời gian bán thải và/hoặc giảm khả năng sinh miễn dịch. Các bệnh và tình trạng khác bao gồm, ví dụ, viêm khớp dạng thấp (RA), bệnh về mắt, viêm cầu thận tăng sinh màng (MPGN), bệnh đa xơ cứng (MS), bệnh nhược cơ (MG), hen suyễn, bệnh viêm ruột, cấp tính do phức hợp miễn dịch (IC) điều trị chấn thương mô viêm, bệnh Alzheimer (AD), chấn thương do thiếu máu cục bộ tái tưới máu, hội chứng urê huyết tán huyết không điển hình (aHUS) và bệnh cầu thận bổ sung 3 (C3G).

Polypeptit u-PA không được biến đổi bao gồm dạng tiền chất, dạng trưởng thành, miền xúc tác, và dạng hoạt tính xúc tác của chúng, và cả protein dung hợp, như các protein được mô tả trong ví dụ 14-16. Ví dụ về polypeptit u-PA không biến đổi là các polypeptit có trình tự được quy định trong SEQ ID NO: 1-6. Bao gồm trong số polypeptit u-PA không bị biến đổi là các polypeptit trong đó xystein tự do trong vùng xúc tác (tương ứng với C122 bằng cách đánh số chymotrypsin) được thay thế bằng axit amin khác, như S hoặc A, đặc biệt là S, không làm thay đổi hoạt tính xúc tác, nhưng làm giảm sự kết hợp của polypeptit. Điều này được hiểu rằng tất cả các polypeptit u-PA biến đổi có thể bao gồm chất thay thế, thường là S, ở gốc tương ứng với C122 bằng cách đánh số chymotrypsin.

Polypeptit hoạt hóa plasminogen loại urokinaza (u-PA) biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này là polypeptit mà chứa một hoặc nhiều biến đổi axit amin được chọn từ trong số thay thế tương ứng với R35Q, H37Y, V41R, V41L, Y40Q, D60aP, L97bA,

T97aI, và H99Q, và biến đổi axit amin bảo toàn của nó, theo đó polypeptit u-PA biến đổi tăng hoạt tính/độ đặc hiệu đối với protein bổ thể so với dạng hoạt hóa không được biến đổi của polypeptit u-PA, trong đó: biến đổi axit amin được chọn từ trong số các thay thế, chèn và loại bỏ; gốc tương ứng có thể được xác định theo sự liên kết với dạng trưởng thành của u-PA; polypeptit u-PA đã biến đổi phân cắt protein bổ thể để nhờ đó ức chế hoặc làm giảm sự hoạt hóa bổ thể so với polypeptit u-PA không biến đổi không chứa sửa đổi axit amin; gốc được đánh số bằng cách đánh số chymotrypsin; polypeptit u-PA không biến đổi bao gồm trình tự được nêu trong bất kỳ SEQ ID NO nào: 1-6 (u-PA có chiều dài đầy đủ của người kiểu dại, vùng u-PA kiểu dại (xúc tác), u-PA trưởng thành kiểu dại, u-PA có chiều dài đầy đủ với sự thay thế tương ứng với C122S, miền proteaza u-PA với sự thay thế tương ứng với C122S và u-PA trưởng thành với sự thay thế tương ứng với C122S) và đoạn hoạt động xúc tác của chúng bao gồm (các) thay thế axit amin. Biến đổi bảo toàn được chọn trong số R35Y, W, F hoặc N; H37 R, Q, E, W hoặc F, V41K, D60aS, T97aD, L hoặc V, L97bG hoặc S và H99N, bằng cách đánh số chymotrypsin.

Cụ thể là, trong số các polypeptit hoạt hóa plasminogen loại urokinaza (uPA) biến đổi là các polypeptit chứa một hoặc nhiều biến đổi axit amin được chọn từ trong số các thay thế tương ứng với R35Q, H37Y, V41R, V41L, Y40Q, D60aP, L97bA, T97aI, và H99Q.

Polypeptit u-PA biến đổi giảm hoạt tính và/hoặc độ đặc hiệu để phân cắt trình tự cơ chất ở plasminogen. Protein bổ thể mà polypeptit tăng độ đặc hiệu/hoạt tính là C3; phân cắt làm bất hoạt C3. Ví dụ của vị trí phân cắt là trong vị trí hoạt hóa của C3. Polypeptit u-PA biến đổi là polypeptit có hoạt tính tăng để phân cắt C3 mà lớn hơn ít nhất 3 lần polypeptit u-PA không được biến đổi của SEQ ID NO:5 (miền proteaza với thay thế C122S).

Polypeptit u-PA biến đổi bao gồm các polypeptit mà chứa thay thế H37Y, như thay thế H37Y/V38E. Polypeptit u-PA biến đổi bao gồm chứa thay thế R35Y/H37K hoặc R35Q/H37K, như chứa thay thế R35Y/H37K/V38E hoặc R35Q/H37K/V38E.

Sáng chế cũng đề xuất polypeptit u-PA biến đổi, bao gồm các polypeptit được mô tả ở trên, cũng chứa thay thế L97bA và/hoặc R35Q, và hoặc H99Q, và/hoặc D60aP, và/hoặc T97aI.

Polypeptit u-PA biến đổi còn có thể bao gồm thay thế axit amin tương ứng với T39Y, T39W, T39F, như T39Y, hoặc thay thế bảo toàn được chọn từ T39M hoặc T39L. Các polypeptit u-PA biến đổi khác bao gồm hoặc còn bao gồm thay thế axit amin R35Q/H37Y và/hoặc V38E/V41R/Y149R.

Các polypeptit u-PA biến đổi khác là các polypeptit mà chứa biến đổi V41R, như polypeptit u-PA biến đổi chứa biến đổiV38E/V41R, bao gồm các biến đổi mà còn chứa thay thế ở một hoặc nhiều trong số các vị trí R35, H37 và V38. Chúng bao gồm polypeptit u-PA biến đổi trong đó thay thế ở V38 là E, như ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi chứa R35Y/H37S/V38E/V41R, H37Y/V38E, và các hỗn hợp khác của gốc mà góp phần vào sự phân cắt C3 và/hoặc sự ổn định, như ở dịch lỏng cơ thể.

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này mà có ED_{50} cho sự phân cắt làm bất hoạt C3 nhỏ hơn hoặc 100 nM, hoặc 50 nM hoặc 30 nM hoặc 25 nM ở thử nghiệm *in vitro*. Ví dụ của chúng là được nêu ở bảng 14, trong đó ED_{50} là 100 nM hoặc nhỏ hơn, hoặc được nêu ở bảng 14, trong đó ED_{50} nhỏ hơn 50 nM, hoặc được nêu ở bảng 14, trong đó ED_{50} nhỏ hơn 30 nM, hoặc được nêu ở bảng 14, trong đó ED_{50} nhỏ hơn 25 nM. Ví dụ của thử nghiệm để đánh giá ED_{50} là bao gồm ủ cơ chất bổ sung protein người C3 với các nồng độ khác nhau của mỗi proteaza đã được biến đổi trong 1 giờ ở 37°C để xác định ED_{50}. Đặc biệt, polypeptit u-PA được biến đổi là bất kỳ polypeptit nào phân cắt C3 với ED_{50} từ 50 nM hoặc ít hơn.

Polypeptit u-PA không được biến đổi có thể gồm trình tự axit amin được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO:1-6 hoặc có thể bao gồm biến đổi bổ sung, bao gồm chèn, và loại bỏ bổ sung. Bất kỳ trong số các thay thế, chèn hoặc loại bỏ trong bản mô tả này có thể được bao gồm trong polypeptit u-PA không được biến đổi, như miền proteaza, cụ thể là miền proteaza của SEQ ID NO:5. Polypeptit u-PA biến đổi có thể có độ tương đồng trình tự ít nhất là 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc nhiều hơn với polypeptit của bất kỳ trong số SEQ ID No.: 1-6 hoặc phần có hoạt tính xúc tác của chúng. Polypeptit u-PA biến đổi có thể chứa 1 hoặc tối đa 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, hoặc 17 axit amin thay thế, chèn hoặc loại bỏ, so với polypeptit u-PA chưa biến đổi của bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1-6 hoặc phần có hoạt tính xúc tác của chúng.

Do đó, sáng chế đề xuất polypeptit u-PA biến đổi mà chứa biến đổi V41R, hoặc H37Y, hoặc L97bA, hoặc R35Q, hoặc H99Q, hoặc D60aP, hoặc T97aI hoặc hỗn hợp của chúng. Bất kỳ trong số các polypeptit u-PA biến đổi có thể còn chứa thay thế axit amin tương ứng với T39Y, T39W, T39F hoặc thay thế bảo toàn của chúng được chọn từ T39M hoặc T39L. Cụ thể là, polypeptit u-PA biến đổi có thể còn chứa thay thế axit amin T39Y, như hỗn hợp T39Y/V41R, và lên đến 12 hoặc 13 biến đổi bổ sung cũng như C122S tùy ý. Bất kỳ trong số các polypeptit u-PA biến đổi còn có thể chứa thay thế axit amin V38E và có thể còn chứa một hoặc nhiều biến đổi axit amin R35Q, Y60bQ và/hoặc Y149R. Bất kỳ trong số các polypeptit u-PA biến đổi còn có thể chứa biến đổi axit amin R37aE hoặc R37aS. Do đó, polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể chứa thay thế R35Q/H37Y/T39Y/V41R hoặc R35Q/H37Y/T39Y/V41R/C122S. Bất kỳ trong số các polypeptit u-PA đã biến đổi đều có thể chứa thay thế tương ứng với H99Q.

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này là polypeptit chứa biến đổi axit amin R35Q/H37Y/ T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S hoặc R35Q/H37Y/ T39Y/V41R/L97bA/H99Q, hoặc T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/H99Q hoặc T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S hoặc T39Y/V41R/D60aP/L97bA/H99Q/C122S hoặc T39Y/V41R/D60aP/L97bA/H99Q/C122S. Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này cũng là polypeptit chứa biến đổi axit amin tương ứng với Y40Q/V41L/L97bA/C122S hoặc Y40Q/V41R/L97bA/C122S hoặc Y40Q/V41L/L97bA hoặc Y40Q/V41R/L97bA hoặc R37aS/V41R/L97bG/H99Q hoặc R37aS/V41R/L97bG/H99Q/C122S hoặc T39Y/V41L/L97bA/H99Q/C122S hoặc T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S.

Được bao gồm trong số các polypeptit u-PA biến đổi là các polypeptit mà chứa biến đổi: R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R hoặc R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R.

Sáng chế đề xuất polypeptit u-PA biến đổi mà chứa biến đổi axit amin, được bao gồm là polypeptit với biến đổi:

H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

hoặc

R35Q/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

hoặc

R35Q/H37Y/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

hoặc

R35Q/H37Y/R37aE/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

hoặc

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

hoặc

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

hoặc

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

hoặc

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

hoặc

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

hoặc

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/H99Q/C122S/Y149R;

hoặc

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/C122S/Y149R;

hoặc

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S

hoặc

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aA/Y60bP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

hoặc

R35L/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

hoặc

R35M/H37G/R37aD/V38E/T39W/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

hoặc

R35Q/H37G/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

hoặc

R35A/H37G/R37aE/V38E/T39F/V41R/D60aE/Y60bP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

hoặc

R35Q/H37S/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

hoặc

R35Q/H37T/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aE/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

hoặc

R35Q/H37G/R37aE/V38E/T39H/V41R/D60aP/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

hoặc

R35W/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aE/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R hoặc

R35Q/H37G/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R hoặc

R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/D97T/T97aE/L97bG/A98S/H99L/C1 22S hoặc

R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41K/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192A hoặc

R35Y/H37V/R37aW/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T hoặc

R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41K/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T hoặc

mỗi không có thay thế ở C122. Ví dụ của các polypeptit u-PA biến đổi này là chứa biến đổi R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R.

Ví dụ của các polypeptit này là trình tự của chúng được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO.: 8-44 và 987, như 21 và 39-44 cũng như tiền chất và polypeptit u-PA biến đổi chiều dài đầy đủ chứa polypeptit mà trình tự của nó được nêu trong SEQ ID NO.: 8-44 và phần có hoạt tính xúc tác của chúng. Điều này cũng được hiểu rằng ở bất kỳ trong số các polypeptit u-PA biến đổi được cung cấp trong bản mô tả này, Cys ở gốc 122, bằng cách đánh số chymotrypsin, có thể được thay thế bằng Ser, hoặc có thể vẫn là Cys. Cys được giữ lại cho phương án trong đó polypeptit, bao gồm protein dung hợp, chứa miền u-PA proteaza biến đổi nhằm mục đích sử dụng ở dạng hai chuỗi trong đó C122 tự do tạo liên kết disunfua với Cys tự do khác trong polypeptit, hoặc Cys được biến đổi, như bằng cách PEGyl hóa. Theo tất cả các phương án được mô tả trong bản mô tả này, vị trí 122 có thể là Cys hoặc Ser. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có thể lựa chọn gốc thích hợp tùy theo mục đích sử dụng.

Polypeptit u-PA không được biến đổi chứa miền proteaza của bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1-6, hoặc phần có hoạt tính xúc tác của chúng, bao gồm hoặc chỉ chứa miền proteaza của SEQ ID NO: 2 hoặc SEQ ID NO:5.

Polypeptit u-PA biến đổi có thể chứa biến đổi bổ sung, bao gồm biến đổi sau dịch mã, biến đổi mà đưa vào hoặc loại bỏ vị trí glycosyl hóa, sửa đổi, như liên kết hoặc liên hợp với polyme, như PEG để tăng thời gian bán thải trong huyết thanh và/hoặc để giảm khả năng sinh miễn dịch hoặc cả hai. Cụ thể là, bất kỳ và tất cả các polypeptit u-PA đã biến đổi được mô tả và cung cấp trong bản mô tả này đều có thể được PEG hóa. Protein dung hợp chứa polypeptit u-PA biến đổi được cung cấp trong bản mô tả này, như dung hợp với miền Fc, hoặc chất nhắm đích cụ thể cho tế bào được nhắm đích hoặc kháng nguyên cũng được đề xuất.

Polypeptit u-PA biến đổi và protein dung hợp được đề xuất trong bản mô tả này là có sự ổn định lớn hơn 50% hoặc 80% sau khi ủ trong PBS, hoặc trong dịch lỏng cơ thể, như dung dịch nước hoặc huyết thanh trong 7 ngày. Ngoài ra trong số các polypeptit u-PA đã biến đổi có các polypeptit ở dạng hoạt tính, có hoạt tính giảm ít nhất 100 lần trên plasmin so với dạng tương ứng của polypeptit u-PA không được biến đổi.

Polypeptit u-PA biến đổi và protein dung hợp cũng được đề xuất trong bản mô tả này là có ED_{50} để sự phân cắt làm bất hoạt C3 nhỏ hơn hoặc 100 nM, hoặc 50 nM hoặc 30 nM hoặc 25 nM hoặc 15 nM hoặc 10 nM ở thử nghiệm in vitro, như bất kỳ được ví dụ trong các Ví dụ trong bản mô tả này. Chúng bao gồm các polypeptit chứa hoặc là các miền proteaza được nêu trong Bảng 14, liệt kê nhiều chuỗi đột biến và ED_{50} cho các miền proteaza polypeptit u-PA biến đổi thể hiện ED_{50} được đánh giá như được mô tả trong Ví dụ 2. Các polypeptit u-PA biến đổi và polypeptit dung hợp có ED_{50} từ 100 nM trở xuống, nhỏ hơn 50 nM, nhỏ hơn 30 nM, nhỏ hơn 25 nM, nhỏ hơn 15 nM, nhỏ hơn 10 nM, nằm trong số những polypeptit có thể được sử dụng làm miền proteaza hoặc các dạng u-PA dài hơn và/hoặc trong các protein dung hợp như được mô tả trong bản mô tả này.

Sáng chế đề xuất protein liên hợp, bao gồm protein dung hợp chứa polypeptit u-PA biến đổi hoặc một phần có hoạt tính xúc tác của bất kỳ polypeptit u-PA biến đổi nào được dung hợp với polypeptit không phải proteaza hoặc một phần của chúng. Các polypeptit không phải proteaza, như các polypeptit bao gồm vùng đa hợp, như vùng Fc, polypeptit, như albumin, làm tăng độ ổn định huyết thanh hoặc vùng dẫn truyền protein (PTD) được đề xuất.

Như được thảo luận ở trên, tất cả các biến đổi có thể ở polypeptit không được biến đổi mà trình tự của chúng được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO.: 1-6 và các phần có hoạt tính xúc tác của chúng. Bao gồm trong số các polypeptit là các polypeptit không bị biến đổi có trình tự được nêu trong SEQ ID NO:5 (miền proteaza với thay thế C122S).

Sáng chế cũng đề xuất protein dung hợp mà chứa polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này và polypeptit bổ sung, như albumin huyết thanh, miền multime hóa, trình tự tín hiệu và các trình tự và thẻ vận chuyển khác để tạo điều kiện cho việc biểu hiện và phân lập. Protein dung hợp cũng có thể bao gồm trình tự hoạt hóa

để hoạt hóa phần u-PA. Dạng hoạt tính của protein dung hợp được sản xuất khi biểu hiện, và loại bỏ chuỗi tín hiệu, và các tín hiệu xử lý và vận chuyển khác bất kỳ để dẫn đến protein dung hợp có hoạt tính phân cắt C3. Dạng hoạt tính của protein dung hợp bao gồm 2 dạng được hoạt hóa chuỗi và cả dạng dime, như dạng kết quả từ sự bao gồm của miền multime hóa.

Protein dung hợp là chứa polypeptit u-PA biến đổi hoặc phần có hoạt tính xúc tác của polypeptit u-PA biến đổi, như ở bảng 14, được dung hợp với polypeptit không phải proteaza hoặc một phần của chúng. Protein dung hợp cũng có thể bao gồm trình tự hoạt hóa, và, trước khi xử lý, trình tự tín hiệu và các tín hiệu vận chuyển khác. Các polypeptit không phải proteaza, bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, bất kỳ đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này để tạo ra hoạt tính hoặc tính chất dược phẩm mong muốn, miền đa hợp hóa, như Fc, miền chuyển nạp protein (PTD), miền liên kết axit hyaluronic (HABD), kháng thể để nhắm đích đến kháng nguyên cụ thể. Protein dung hợp cũng có thể bao gồm trình tự hoạt hóa, như trình tự hoạt hóa u-PA tự nhiên hoặc trình tự hoạt hóa furin. Ví dụ về trình tự hoạt hóa furin là hoặc bao gồm QSGQKTLRRRKR (SEQ ID NO: 996) hoặc QCGQKTLRRRKR (SEQ ID NO: 995) hoặc QSGQKTLRRKR (SEQ ID NO: 1044) hoặc vị trí hoạt hóa furin có độ tương đồng trình tự ít nhất là 98%.

Ví dụ, protein dung hợp mà chứa bất kỳ trong số các polypeptit u-PA biến đổi như được mô tả hoặc được đề xuất trong bản mô tả này, và cũng bao gồm, trước khi xử lý hoặc hoạt hóa, trình tự tín hiệu và polypeptit u-PA biến đổi hoặc phần có hoạt tính xúc tác của chúng. Trình tự tín hiệu để mã hóa để tiết ra protein dung hợp bao gồm, ví dụ, trình tự tín hiệu từ Il-2, u-PA, hoặc IgGκ.

Protein dung hợp có thể bao gồm đối tác dung hợp, như miền đa trùng hợp, hoặc polypeptit làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh, hoặc miền mang lại hoạt tính hoặc tính chất dược lý mong muốn khác. Ví dụ trong số này là albumin, hoặc miền Fc, hoặc kháng thể chuỗi đơn hoặc mảnh liên kết kháng nguyên khác của kháng thể, hoặc miền liên kết axit hyaluronic (HABD). Đối tác dung hợp ví dụ bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, yếu tố gây hoại tử khối u-gen-6 được kích thích (TSG-6); HSA, IgG Fc, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, như mảnh scFv của kháng thể collagen chống loại II hoặc kháng thể kháng VEGFR hoặc mảnh của chúng.

Protein dung hợp cũng có thể bao gồm trình tự hoạt hóa sao cho protein dung hợp thu được chứa u-PA ở dạng hoạt hóa, như dạng hai chuỗi. Trình tự hoạt hóa có thể chứa hoặc được biến đổi để chứa xystein, có thể tạo liên kết disulfua với Cys tự do, như C122, trong polypeptit u-PA biến đổi, theo đó, khi hoạt hóa, polypeptit hoạt hóa thu được bao gồm hai chuỗi. Trình tự hoạt hóa ví dụ là trình tự hoạt hóa u-PA và trình tự hoạt hóa furin, và dạng biến đổi của chúng, như trình tự hoạt hóa có trình tự được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 995-998, 1041 và 1044 hoặc trình tự có độ tương đồng trình tự ít nhất là 98% hoặc 99%.

Protein dung hợp làm ví dụ là chứa trình tự hoạt hóa, polypeptit u-PA biến đổi, và HSA, như bất kỳ chứa trình tự axit amin được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1014, 1015, 1016, 1019 và 1040 hoặc dạng biến đổi có độ tương đồng trình tự ít nhất là 95%, 96%, 97%, 98%, 99% (và chứa biến đổi ở trình tự của phần u-PA). Để sử dụng trong phương pháp điều trị, protein dung hợp thường không chứa trình tự tín hiệu. Để sử dụng trong phương pháp trị liệu gen, axit nucleic có thể mã hóa trình tự tín hiệu.

Sáng chế đề xuất protein dung hợp, như protein chứa trình tự của axit amin được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID No: 1004-1019 và 1034-1040 hoặc bất kỳ có độ tương đồng trình tự ít nhất là 95%, 96%, 97%, 98%, 99% (và chứa biến đổi ở trình tự của phần u-PA). Ví dụ của protein dung hợp là có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:1015 hoặc 1019. Cụ thể là, trình tự tín hiệu được loại bỏ trước khi sử dụng hoặc khi biểu hiện *in vivo* hoặc khi được sản xuất *in vitro*. Chúng bao gồm ở dạng hoạt hóa hai chuỗi chứa chuỗi A và chuỗi B. Ví dụ, protein dung hợp, trong đó chuỗi B bắt đầu ở gốc IIGG của polypeptit u-PA biến đổi và kết thúc ở đầu tận C của protein dung hợp, như chứa polypeptit u-PA biến đổi và HSA, chứa trình tự axit amin được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 1005, 1011, 1014, 1015, và 1036, nhưng thiếu trình tự tín hiệu. Ví dụ của protein dung hợp ở dạng hoạt hóa là protein dung hợp mà chứa chuỗi A của gốc 21-178, và chuỗi B của gốc 179 đến đầu tận C của protein với liên kết disulfua nằm trong khoảng các gốc 168-299. Cần hiểu rằng cũng bao gồm protein dung hợp có độ tương đồng trình tự ít nhất là 95%, 96%, 97%, 98%, 99% (và chứa biến đổi ở trình tự của phần u-PA). Ví dụ, sáng chế đề xuất protein dung hợp chứa chuỗi A và chuỗi B, trong đó chuỗi A gồm gốc 21-178 của SEQ ID NO: 1015, và chuỗi B gồm gốc 179-1022; và chuỗi A và B được liên kết qua cầu nối disulfua nằm trong khoảng từ C168 đến C299 của SEQ ID NO: 1015.

Các protein dung hợp khác được đề xuất trong bản mô tả này chứa các miền multime hóa sao cho, khi xử lý, chúng tạo thành các chất đa phân, như các chất dime hình thành thông qua sự tương tác của các miền multime hóa bổ sung, như miền Fc.

Sáng chế cũng đề xuất hỗn hợp, có thể được đóng gói dưới dạng kit, chứa chế phẩm thứ nhất chứa polypeptit u-PA đã được sửa đổi, bao gồm, như trong tất cả các phương án, protein dung hợp, đặc biệt là ở dạng được hoạt hóa, hoặc đa lượng của chúng, và chế phẩm thứ hai chứa chất thứ hai hoặc chất để điều trị bệnh hoặc rối loạn qua trung gian bổ thể. Ví dụ, chất thứ hai có thể là (các) chất chống viêm hoặc (các) chất chống đông máu. Ví dụ về các chất này là (các) chất chống viêm được chọn từ bất kỳ một hoặc nhiều loại thuốc chống viêm không steroid (NSAID), chất chống chuyển hóa, corticosteroid, thuốc giảm đau, chất gây độc tế bào, chất ức chế xytokin chống viêm, các xytokin chống viêm, Chất nhắm đích tế bào B, hợp chất nhắm đích kháng nguyên T, chất chặn phân tử bám dính, chất đối kháng thụ thể chemokine, chất ức chế kinaza, phối tử PPAR-γ (gamma), chất ức chế bổ thể, heparin, warfarin, acenocoumarol, phenindione, EDTA, xitrat, oxalate, argatroban, lepirudin, bivalirudin và ximelagatran.

Sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mà mã hóa bất kỳ trong số các polypeptit u-PA biến đổi và protein dung hợp được đề xuất trong bản mô tả này. Sáng chế cũng đề xuất vectơ chứa phân tử axit nucleic này và mã hóa polypeptit u-PA biến đổi. Vectơ bao gồm vectơ chưa có nhân điển hình, và vectơ có nhân điển hình, bao gồm vectơ của động vật có vú và côn trùng, như vectơ baculovirut, vectơ nấm men, như *Pichia* và *Saccharomyces*, và các vectơ virut, như vectơ virut herpes simplex hoặc vectơ virut vaccin, vectơ AAV, vectơ adenovirut hoặc vectơ retrovirut. Các vectơ có thể là vectơ biểu hiện để sản xuất polypeptit u-PA và/hoặc vectơ đã được biến đổi, như adenovirut và virut AAV, đặc biệt là những virut có tính chất dinh dưỡng đối với mô quan tâm, như gan hoặc mắt, để trị liệu gen.

Sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất polypeptit u-PA biến đổi bằng cách cho sinh trưởng tế bào chứa vectơ hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA biến đổi hoặc protein dung hợp trong các điều kiện trong đó vectơ được biểu hiện, và tùy ý cô lập hoặc khôi phục polypeptit u-PA biến đổi được biểu hiện.

Sáng chế cũng đề xuất tế bào được phân lập và giống cấy tế bào mà chứa phân tử axit nucleic hoặc vectơ. Tế bào có thể là tế bào không phải của người, hoặc giống cấy

tế bào của người, nhưng không bao gồm bất kỳ hợp tử hoặc tế bào nào phát triển thành người. Tế bào bao gồm tế bào động vật có vú và tế bào vi khuẩn, bao gồm nhưng không bị giới hạn ở tế bào vi khuẩn, như *E. coli*, CHO, Balb/3T3, HeLa, MT2, chuột NS0, BHK, tế bào côn trùng, tế bào nấm men và các tế bào khác thường được sử dụng cho sự biểu hiện tái tổ hợp của polypeptit. Phương pháp sản xuất polypeptit u-PA biến đổi bao gồm nuôi cấy tế bào trong điều kiện, theo đó polypeptit u-PA biến đổi đã mã hóa được biểu hiện và tùy ý phân lập hoặc tinh chế polypeptit u-PA biến đổi. Nói chung, polypeptit u-PA biến đổi và liên hợp của chúng, như protein dung hợp, được tạo ra trong tế bào mà glycosyl hóa protein. Polypeptit u-PA biến đổi đã phân lập có thể còn được biến đổi, như bằng cách PEGyl hóa.

Sáng chế cũng đề xuất dược phẩm chứa polypeptit u-PA biến đổi và protein dung hợp và/hoặc axit nucleic và/hoặc vectơ. Sáng chế đề xuất sử dụng dược phẩm, axit nucleic hoặc polypeptit u-PA biến đổi để ức chế hoạt hóa bổ thể để từ đó điều trị bệnh hoặc rối loạn trung gian bởi hoạt hóa bổ thể hoặc trong đó hoạt hóa bổ thể đóng một vai trò trong căn nguyên hoặc căn nguyên cơ bản của bệnh hoặc rối loạn. Cụ thể, được cung cấp là việc sử dụng các phân tử axit nucleic và/hoặc vectơ cho liệu pháp gen để điều trị các bệnh, rối loạn và tình trạng như vậy, qua trung gian hoặc liên quan đến hoạt hóa bổ thể, trong đó ức chế tác động hoạt hóa bổ thể điều trị hoặc cải thiện bệnh hoặc tình trạng. Ngoài ra còn cung cấp các phương pháp điều trị bệnh hoặc tình trạng qua trung gian hoặc liên quan đến hoạt hóa bổ thể bằng cách sử dụng các vectơ hoặc sử dụng các phân tử axit nucleic. Đặc biệt, các bệnh, rối loạn và tình trạng là những bệnh mà sự bất hoạt của C3 do đó ức chế hoặc làm giảm hoạt hóa bổ thể tác dụng điều trị.

Bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh qua trung gian bổ thể hoặc bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh trong đó việc hoạt hóa bổ thể đóng vai trò trong căn nguyên hoặc căn nguyên cơ bản, bao gồm nhưng không bị giới hạn ở rối loạn viêm bất kỳ, nhiễm trùng huyết, viêm khớp dạng thấp (RA), bệnh về mắt hoặc nhãn khoa, rối loạn tim mạch, viêm cầu thận tăng sinh màng (MPGN), đa xơ cứng (MS), nhược cơ (MG), hen suyễn, bệnh viêm ruột, tổn thương mô viêm cấp tính qua trung gian phức hợp miễn dịch (IC), bệnh Alzheimer (AD), chấn thương do thiếu máu cục bộ tái tưới máu, hội chứng urê huyết tán huyết không điển hình (aHUS), bệnh cầu thận bổ sung 3 (C3G) và thải ghép nội tạng, cụ thể là thải ghép nội tạng bị trì hoãn. Bệnh và rối loạn cụ thể bao gồm rối loạn mắt hoặc nhãn khoa, như thoái hóa điểm vàng hoặc bệnh võng mạc tiểu đường, hoặc

viêm do cơ quan được cấy ghép. Được bao gồm trong số các bệnh, rối loạn và tình trạng là thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD) và chức năng ghép thận bị trì hoãn (DGF).

Phương pháp ức chế hoạt hóa bổ thể được đề xuất. Phương pháp được thực hiện bằng cách tiếp xúc với polypeptit u-PA biến đổi với protein bổ thể C3, theo đó protein bổ thể C3 bị phân cắt sao cho sự hoạt hóa bổ thể bị giảm hoặc bị ức chế. Tiếp xúc có thể được thực hiện *in vitro*, nhưng nói chung là *in vivo*, bằng cách sử dụng polypeptit u-PA đã được sửa đổi cho đối tượng mong muốn khử hoạt hoặc khử bổ thể. Việc sử dụng có thể là toàn thân, như đường tiêm, bao gồm cả tiêm tĩnh mạch hoặc tại chỗ, như bằng cách tiếp xúc với mô bị ảnh hưởng, như mắt. Sử dụng cho mắt bao gồm bằng cách nhỏ giọt, bằng cách liên kết polypeptit u-PA đã được sửa đổi với vùng dẫn truyền protein, hoặc bằng cách tiêm trong thực vật, tiêm trong hoặc dưới màng não hoặc phương pháp khác. Đối với các bệnh và tình trạng, như DGF, việc sử dụng có thể được thực hiện bằng cách tiêm tĩnh mạch. Các phương pháp khác bao gồm tiêm dưới da và thẩm thấu qua da.

Phương pháp và sử dụng bao gồm điều trị bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bất kỳ trong đó việc ức chế hoạt hóa bổ thể dẫn đến giảm triệu chứng viêm liên quan đến bệnh hoặc rối loạn qua trung gian bổ thể được lựa chọn trong số rối loạn viêm, rối loạn thoái hóa thần kinh, rối loạn nhãn khoa và rối loạn tim mạch. Chúng bao gồm nhưng không bị giới hạn ở bệnh viêm, tình trạng và rối loạn, nhiễm trùng huyết, viêm khớp dạng thấp (RA), rối loạn mắt, viêm cầu thận tăng sinh màng (MPGN), đa xơ cứng (MS), nhược cơ (MG), hen suyễn, bệnh viêm ruột, tổn thương mô viêm cấp tính qua trung gian phức hợp miễn dịch (IC), hội chứng urê huyết tán huyết không điển hình (aHUS), bệnh cầu thận bổ thể 3 (C3G), bệnh Alzheimer (AD), rối loạn nhãn khoa, như AMD và bệnh võng mạc tiểu đường, và chấn thương tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ. Chấn thương tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ có thể liên quan hoặc do sự kiện hoặc phương pháp điều trị được lựa chọn trong số nhồi máu cơ tim (MI), đột quỵ, nong mạch, ghép nối động mạch vành, bắc cầu tim phổi (CPB) và chạy thận nhân tạo hoặc điều trị cho đối tượng. Việc điều trị bằng polypeptit u-PA biến đổi được thực hiện trước khi điều trị cho đối tượng. Phương pháp điều trị bao gồm cấy ghép nội tạng. Bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bao gồm tình trạng nhãn khoa hoặc là bệnh về mắt hoặc bị đào thải hoặc viêm do cơ quan được cấy ghép, như bệnh võng mạc tiểu đường hoặc thoái hóa điểm vàng. Cụ thể là, đề xuất phương pháp điều trị thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD), cũng như phương pháp điều trị chức năng ghép thận bị trì hoãn (DGF). Việc điều trị có

thể được thực hiện bằng cách tiêm tĩnh mạch hoặc tiêm dưới da hoặc khu trú, như bằng cách tiêm polypeptit u-PA biến đổi vào mắt. Được bao gồm là tiêm trong dịch thủy tinh hoặc trong dịch kính, dưới màng phổi, tiêm hoặc liên kết polypeptit u-PA biến đổi với miền chuyển nạp protein để tạo điều kiện thuận lợi cho việc truyền nạp vào dịch thủy tinh. Polypeptit u-PA biến đổi có thể được liên kết hoặc liên hợp với gốc có tác dụng nhắm đích polypeptit tới cơ quan hoặc mô cụ thể, hoặc làm tăng thời gian bán hủy trong huyết thanh hoặc giảm tính sinh miễn dịch, như PEGyl hóa và/hoặc liên kết với miền Fc hoặc với kháng thể hoặc phần liên kết kháng nguyên của chúng.

Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng mắc rối loạn hoặc tình trạng trung gian qua bổ thể hoặc trong đó hoạt hóa bổ thể đóng vai trò trong rối loạn hoặc tình trạng này, bằng cách cho sử dụng polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này. Sử dụng polypeptit u-PA biến đổi và protein dung hợp được đề xuất trong bản mô tả này cũng được đề xuất. Polypeptit u-PA biến đổi và protein dung hợp tác dụng điều trị hoặc có thể được sử dụng để điều trị vì chúng phân cắt protein bổ thể C3 để từ đó ức chế hoặc giảm hoạt hóa bổ thể. Việc ức chế hoạt hóa bổ thể dẫn đến giảm triệu chứng viêm kết hợp với rối loạn, bệnh hoặc tình trạng trung gian qua bổ thể mà liên quan đến đáp ứng viêm, dẫn đến giảm triệu chứng viêm kết hợp với với bệnh, tình trạng hoặc rối loạn trung gian qua bổ thể được chọn từ trong số rối loạn viêm, rối loạn thoái hóa thần kinh và rối loạn tim mạch. Chúng bao gồm các tình trạng nhãn khoa, như bệnh võng mạc tiểu đường và thoái hóa điểm vàng, và cũng có thể trì hoãn đào thải cơ quan, như DGF.

Liều lượng để sử dụng và phương pháp và chế phẩm liều lượng duy nhất được đề xuất trong bản mô tả này. Liều lượng duy nhất có thể được xác định theo kinh nghiệm bởi bác sĩ lành nghề, và bao gồm, ví dụ, liều lượng duy nhất nằm trong khoảng từ 0,1 mg đến 1 mg để dùng khu trú và từ 0,1 mg đến 10, 15, 20, 30 mg hoặc nhiều hơn để dùng toàn thân, như dùng qua tĩnh mạch. Liều lượng cụ thể phụ thuộc vào rối loạn hoặc bệnh hoặc tình trạng bệnh cụ thể, đối tượng được điều trị, giai đoạn của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh, đường dùng, phác đồ và các thông số khác. Liều dùng có thể được lặp lại hàng ngày, hai, ba, bốn, năm, sáu hoặc bảy ngày, ít nhất hai lần mỗi tuần, ít nhất hai tuần một lần, ba tuần, bốn tuần hoặc khoảng thời gian dài hơn. Chế độ và liều lượng cụ thể phụ thuộc, ví dụ, vào chứng rối loạn được điều trị, chế độ điều trị và đặc điểm cụ

thể, như cân nặng, của đối tượng. Việc xác định nó nằm trong kỹ năng của bác sĩ lành nghề.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp, sử dụng và hỗn hợp và polypeptit u-PA biến đổi và protein dung hợp, trong đó polypeptit u-PA biến đổi chứa V41R hoặc V41L biến đổi, cụ thể là V41R, như V41I hoặc R và V38E, và chứa H37Y/V38E. Ví dụ của polypeptit u-PA biến đổi này là polypeptit u-PA biến đổi mà chứa Y40Q/V41R/L97bA hoặc Y40Q/V41L/L97BA hoặc R37aS/V41R/L97bG/H99Q, hoặc R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R biến đổi. Biến đổi là polypeptit u-PA không được biến đổi bất kỳ, bao gồm được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO.: 1-6, và phần có hoạt tính xúc tác của chúng mà bao gồm gốc tương ứng với V41. Ví dụ về polypeptit u-PA được sửa đổi như vậy là polypeptit u-PA đã được sửa đổi bao gồm trình tự của gốc axit amin nêu trong SEQ ID NO: 21 hoặc 987 hoặc trong bất kỳ SEQ ID No., 40-44, hoặc 40- 44 mà không có sự biến đổi ở C122, bằng cách đánh số chymotrypsin, và các phần có hoạt tính xúc tác của chúng, và các dạng biến đổi của chúng, như dạng PEGyl hóa, và các protein dung hợp và dạng biến đổi của chúng.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị rối loạn, như DGF, bằng cách dùng qua đường tĩnh mạch polypeptit u-PA biến đổi hoặc protein dung hợp (ở dạng hoạt hóa) như được mô tả và đề xuất trong bản mô tả này, bao gồm polypeptit u-PA biến đổi bao gồm trình tự gốc axit amin được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 21 và 40 - 44, và dạng biến đổi của chúng, như dạng PEGyl hóa. Liều lượng duy nhất có thể được xác định theo kinh nghiệm bởi bác sĩ lành nghề và bao gồm liều lượng duy nhất nằm trong khoảng từ 0,1 mg đến 1 mg. Liều lượng phụ thuộc vào đối tượng, mức độ nghiêm trọng hoặc giai đoạn của bệnh hoặc rối loạn, như DGF. Việc điều trị có thể được lặp lại nhiều lần, như hai, ba hoặc bốn lần một ngày, một lần một ngày, lặp lại sau mỗi 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, hàng tuần, hai lần mỗi tháng hoặc hàng tháng. Polypeptit u-PA biến đổi có thể là polypeptit bao gồm thay thế/chèn bằng cách đánh số chymotrypsin, R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; và bằng cách đánh số trưởng thành R20Q/H22Y/R23E/V27E/T28Y/V30R/D50P/Y51Q/T91I/L92A/H94Q/C121S/Y148R. Ví dụ của nó là polypeptit u-PA biến đổi chứa miền proteaza được nêu trong SEQ ID

NO: 21 hoặc phần có hoạt tính xúc tác của chúng, hoặc dạng có chiều dài đầy đủ hoặc tiền chất chứa miền proteaza và dạng biến đổi của chúng, như dạng PEGyl hóa và protein dung hợp. Việc sử dụng có thể được thực hiện bằng phương pháp thích hợp bất kỳ, bao gồm qua tĩnh mạch, dưới da, qua da, khu trú, trong bắp, qua đường miệng và các đường dùng toàn thân khác. Nói chung, dạng được sử dụng của polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này là dạng hoạt hóa, nói chung, tùy thuộc vào thành phần của protein (xem, ví dụ, ví dụ 15), là dạng hai chuỗi.

Phương pháp như được mô tả trong bản mô tả này như được mô tả ở trên và dưới đây, bao gồm phương pháp điều trị rối loạn mắt hoặc rối loạn thị giác bằng cách dùng bất kỳ trong số các polypeptit u-PA biến đổi và dạng biến đổi của chúng, như dạng PEGyl hóa và protein dung hợp, như các dạng chứa miền dẫn truyền protein, được đề xuất trong bản mô tả này cho mắt. Rối loạn, bệnh hoặc tình trạng bệnh mắt liên quan đến hoạt hóa bổ thể bao gồm bệnh võng mạc tiểu đường và thoái hóa điểm vàng, như AMD. Liều lượng như được mô tả ở trên, và bao gồm liều lượng duy nhất nằm trong khoảng từ 0,1 mg đến 1 mg. Polypeptit u-PA biến đổi bao gồm các polypeptit chứa thay thế
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R, Y40Q/V41L/L97bA/C122S hoặc Y40Q/V41R/L97bA/C122S hoặc Y40Q/V41R hoặc Y40Q/V41R Y40Q/V41R Y40Q/V41R Y40Q/V41R L97bA và các chất chứa trình tự gốc axit amin được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO:21 và 40-44 và phần có hoạt tính xúc tác của chúng, cũng như dạng biến đổi của chúng. Việc điều trị có thể được lặp lại nhiều lần, như một lần mỗi ngày. Việc sử dụng polypeptit u-PA biến đổi và dạng biến đổi của chúng để điều trị AMD hoặc DGF được đề xuất. Polypeptit u-PA biến đổi bao gồm bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm các polypeptit chứa thay thế
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R hoặc Y40Q/V41L/L97bA/C122S hoặc Y40Q/V41R/L97bA/C122S hoặc Y40Q/V41R hoặc Y40Q/V41R hoặc Y40Q/V41R hoặc Y40Q/V41R/Y40Q/V41R L97bA và dạng

biến đổi của chúng được PEGyl hóa hoặc là protein dung hợp như được mô tả trong bản mô tả này.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

FIG. 1 mô tả tổng quan về con đường bổ thể cổ điển, lectin và thay thế và sự hoạt hóa của phức hợp bổ thể cuối, phức hợp tấn công màng (MAC). Fig. mô tả nhiều trong số hơn 30 protein tham gia vào dòng bổ sung, hoạt động của chúng trong dòng và nếu có thể, các điểm hội tụ của chúng giữa các con đường bổ sung. Ví dụ, ba con đường hội tụ khi tạo ra C3 convertaza, con đường này phân cắt C3 để tạo thành C5 convertaza, dẫn đến sự hình thành phức hợp MAC. Fig. này cũng mô tả thế hệ của nhiều sản phẩm phân cắt bổ thể.

FIG. 2A- FIG. 2B là sơ đồ của các protein dung hợp u-PA ở đầu N. FIG. 2A là giản đồ của các protein dung hợp u-PA ở đầu N chứa đối tác dung hợp (tức là Fc) đầu N với miền xúc tác u-PA. Một protein dung hợp ở đầu N được ví dụ được quy định trong SEQ ID NO: 1004, chứa trình tự tín hiệu chuỗi nhẹ kappa (κ) của globulin miễn dịch ở người, Fc (đối tác kết hợp), AGS (trình liên kết), trình tự hoạt hóa u-PA, và miền xúc tác u-PA biến tính. FIG. 2B là một giản đồ của protein kiểu dại ở đầu N không chứa đối tác dung hợp. Một protein kiểu dại có đầu N được ví dụ được quy định trong SEQ ID NO: 1005, chứa trình tự tín hiệu chuỗi nhẹ kappa (κ) của globulin miễn dịch ở người, đầu tận N của u-PA, trình tự hoạt hóa u-PA và miền xúc tác u-PA biến đổi.

FIG. 3A- FIG. 3C là giản đồ của protein dung hợp u-PA đầu tận C. FIG. 3A là giản đồ của protein dung hợp u-PA đầu tận C chứa đầu tận C của đối tác dung hợp với miền xúc tác u-PA trong đó protein dung hợp thiếu trình tự hoạt hóa đầu tận N đối với miền xúc tác u-PA. Protein dung hợp đầu tận C làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO:1006, chứa trình tự tín hiệu IL2 của người (hIL2SP), miền xúc tác u-PA biến đổi, đoạn liên kết và Fc (đối tác dung hợp). Protein dung hợp đầu tận C làm ví dụ khác được nêu trong SEQ ID NO:1007, chứa trình tự tín hiệu IL2 của người (hIL2SP), miền xúc tác u-PA biến đổi, đoạn liên kết và HSA (albumin huyết thanh người làm đối tác dung hợp). Protein dung hợp đầu tận C làm ví dụ khác được nêu trong SEQ ID NO:1008, chứa trình tự tín hiệu IL2 của người (hIL2SP), miền xúc tác u-PA biến đổi, đoạn liên kết và scFv liên kết với collagen II (C2scFv) (đối tác dung hợp). Protein dung hợp ở đầu tận C làm ví dụ khác được nêu trong SEQ ID NO:1009, chứa trình tự tín hiệu IL2 của

người (hIL2SP), miền xúc tác u-PA biến đổi, đoạn liên kết và HABD (miền liên kết axit hyaluronic (đối tác dung hợp). Protein dung hợp đầu tận C làm ví dụ khác được nêu trong SEQ ID NO:1012, chứa trình tự tín hiệu IL2 của người (hIL2SP), miền xúc tác u-PA kiểu dại, đoạn liên kết và Fc (đối tác dung hợp). Protein dung hợp đầu tận C làm ví dụ khác được nêu trong SEQ ID NO:1013, chứa trình tự tín hiệu IL2 của người (hIL2SP), miền xúc tác u-PA kiểu dại, đoạn liên kết và HSA (đối tác dung hợp). Fig. 3B là giản đồ của protein dung hợp u-PA đầu tận C chứa đối tác dung hợp (tức là Fc hoặc HSA) đầu tận C với miền xúc tác u-PA. Protein dung hợp đầu tận C làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO:1010, chứa trình tự tín hiệu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người, vị trí hoạt hóa furin, miền xúc tác u-PA biến đổi, đoạn liên kết, và Fc (đối tác dung hợp). Protein dung hợp đầu tận C làm ví dụ khác được nêu trong SEQ ID NO:1016, chứa trình tự tín hiệu chuỗi nhẹ kappa (κ) của globulin miễn dịch ở người, trình tự hoạt hóa furin, miền xúc tác u-PA biến đổi, đoạn liên kết và HSA (đối tác dung hợp). FIG. 3C là giản đồ của protein dung hợp u-PA chứa đầu tận C (tức là Fc hoặc HSA) với miền xúc tác u-PA và đầu tận N đối tác dung hợp (tức là đầu tận N kiểu dại của u-PA) với miền xúc tác u-PA. Protein dung hợp làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO:1011, chứa trình tự tín hiệu chuỗi nhẹ kappa (κ) của globulin miễn dịch ở người, miền đầu tận N u-PA, miền xúc tác u-PA biến đổi, đoạn liên kết và Fc (đối tác dung hợp). Protein dung hợp đầu tận C làm ví dụ khác được nêu trong SEQ ID NO:1014, chứa trình tự tín hiệu chuỗi nhẹ kappa (κ) của globulin miễn dịch người, miền đầu tận N của u-PA, vị trí hoạt hóa furin, miền xúc tác u-PA biến đổi, đoạn liên kết và HSA (đối tác dung hợp). Protein dung hợp đầu tận C làm ví dụ khác được nêu trong SEQ ID NO:1015, chứa trình tự tín hiệu chuỗi nhẹ kappa (κ) của globulin miễn dịch ở người, vùng đầu tận N của u-PA, trình tự hoạt hóa u-PA, miền xúc tác u-PA biến đổi, đoạn liên kết, và HSA (đối tác dung hợp).

FIG. 4A- FIG. 4H là giản đồ của dạng hoạt hóa của protein dung hợp, trong đó SPD dùng để chỉ miền proteaza serin (miền proteaza polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này; đầu tận N u-PA thường dùng để chỉ gốc 1-178 của u-PA hoặc dạng biến đổi bất kỳ của chúng. FIG. 4A là giản đồ của protein dung hợp của SEQ ID NO: 1010, chứa miền Fc ở đầu tận C của miền proteaza u-PA (SEQ ID NO: 21) và trình tự hoạt hóa furin, nơi liên kết disulfua giữa các miền Fc để tạo thành dime. FIG. 4B là giản đồ của protein dung hợp của SEQ ID NO: 1011, chứa miền Fc ở đầu tận C của

miền proteaza u-PA (SEQ ID NO: 987), và đầu tận N của u-PA và trình tự hoạt hóa u-PA ở đầu tận N của protein, nơi liên kết disulfua giữa các miền Fc để tạo thành dime. FIG. 4C là giản đồ của protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1036, chứa miền Fc ở đầu tận C của miền proteaza u-PA (SEQ ID NO: 987), và đầu tận N của u-PA và trình tự hoạt hóa furin ở đầu tận N của protein dung hợp, nơi liên kết disulfua giữa các miền Fc tạo thành dime. FIG. 4D là giản đồ của protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1014, chứa HSA ở đầu tận C của miền proteaza u-PA (SEQ ID NO: 987), và đầu tận N của u-PA và trình tự hoạt hóa furin ở đầu cuối N của protein dung hợp. FIG. 4E là giản đồ của protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1015, chứa HSA ở đầu tận C của miền proteaza u-PA (SEQ ID NO: 987), và đầu tận N của u-PA và trình tự hoạt hóa u-PA ở đầu tận N của protein dung hợp. FIG. 4F là giản đồ của protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1016, chứa HSA ở đầu tận C của miền proteaza u-PA (SEQ ID NO: 21) và trình tự hoạt hóa furin đầu N với miền proteaza. FIG. 4F là giản đồ của protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1017, chứa HSA ở đầu tận C của miền proteaza u-PA (SEQ ID NO: 21) và đầu tận N trình tự hoạt hóa SUMO với miền proteaza. FIG. 4H là giản đồ của protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1018, chứa miền Fc ở đầu tận C của miền proteaza u-PA (SEQ ID NO: 21) và đầu tận N của u-PA và đầu tận N trình tự hoạt hóa SUMO với miền proteaza, nơi liên kết disulfua giữa các miền Fc tạo thành dime.

Mô tả chi tiết sáng chế

A. Định nghĩa

Trừ khi được xác định khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa giống như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực mà sáng chế thuộc về. Tất cả các patent, đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế, ứng dụng và ấn phẩm đã xuất bản, trình tự GENBANK, trang web và các tài liệu đã xuất bản khác được đề cập trong toàn bộ sáng chế, trừ khi có ghi chú khác, đều được đưa vào toàn bộ bằng cách tham chiếu. Trong trường hợp có nhiều định nghĩa cho thuật ngữ trong bản mô tả này, thì các định nghĩa trong phần này sẽ được ưu tiên áp dụng. Khi tham chiếu đến URL hoặc số nhận dạng hoặc địa chỉ khác, cần được hiểu rằng số nhận dạng này có thể thay đổi và thông tin cụ thể trên internet có thể đến và đi, nhưng thông tin tương đương được biết và có thể dễ dàng truy cập, như bằng cách tìm

kiếm trên internet và/hoặc cơ sở dữ liệu thích hợp. Tham khảo để chứng minh sự sẵn có và phổ biến công khai của thông tin này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, phân cắt dùng để chỉ sự phá vỡ các liên kết peptit bởi proteaza. Mô-típ vị trí phân cắt đối với một proteaza liên quan đến các gốc N- và đầu C đối với liên kết kéo (các mặt không có lớp lót và có mồi, tương ứng với vị trí phân cắt cho một proteaza được xác định là ... P3-P2-P1-P1'-P2'-P3' ..., và sự phân cắt xảy ra giữa gốc P1 và P1'). Ở người C3, sự phân cắt bởi C3 convertaza xảy ra giữa các gốc R và S (xem gốc 746-751 của SEQ ID NO: 47, sự phân cắt giữa các gốc 748 và 749 ở người C3) của C3:

P3 P2 P1 P1' P2' P3'

Leu Ala Arg ↓ Ser Asn Leu

Thông thường, phân cắt cơ chất trong một con đường sinh hóa là sự phân cắt hoạt hóa hoặc một sự phân cắt ức chế. Sự phân cắt hoạt hóa đề cập đến sự phân cắt polypeptit từ dạng không hoạt động sang dạng hoạt động. Điều này bao gồm, ví dụ, sự phân cắt tiền enzym thành một enzym hoạt động. Sự phân cắt hoạt hóa cũng là sự phân cắt theo đó một protein được phân cắt thành một hoặc nhiều protein mà bản thân chúng có hoạt tính. Ví dụ, hệ thống bổ thể là một dòng chảy không thể đảo ngược của các sự kiện phân cắt protein mà sự kết thúc của chúng dẫn đến việc hình thành nhiều phân tử tác động kích thích viêm, tạo điều kiện cho sự thực bào của kháng nguyên và trực tiếp ly giải một số tế bào. Do đó, sự phân cắt C3 bởi C3 convertaza thành C3a và C3b là sự phân cắt hoạt hóa. Ngược lại, các polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này có tác dụng ức chế sự phân cắt C3, như bằng cách phân cắt ở vị trí hoạt động.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, sự phân cắt ức chế hoặc phân cắt làm bất hoạt là phân cắt protein thành một hoặc nhiều sản phẩm xuống cấp không có chức năng. Sự phân cắt ức chế dẫn đến giảm nhẹ hoặc giảm hoạt tính của protein. Thông thường, việc giảm hoạt tính của protein làm giảm con đường hoặc quá trình mà protein tham gia. Trong một ví dụ, sự phân cắt của bất kỳ một hoặc nhiều protein bổ thể là sự phân cắt ức chế dẫn đến việc giảm hoặc ức chế đồng thời của bất kỳ một hoặc nhiều con đường chức năng cổ điển, lectin hoặc thay thế của bổ thể. Để ức chế, sự phân cắt làm giảm hoạt tính ít nhất hoặc ít nhất khoảng 1%, 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% hoặc nhiều hơn so với dạng tự nhiên của protein. Phần trăm phân cắt

của protein cần thiết để phân cắt được ức chế thay đổi giữa các protein nhưng có thể được xác định bằng cách thử nghiệm đối với hoạt tính của protein.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "hoạt hóa bổ thể" dùng để chỉ sự hoạt hóa con đường bổ thể, ví dụ hoạt hóa bổ thể dùng để chỉ sự tăng về chức năng hoặc hoạt động của bất kỳ một hoặc nhiều con đường bổ thể bởi proteaza hoặc sự gia tăng hoạt động của bất kỳ protein nào trong con đường bổ thể. Hoạt hóa bổ thể có thể dẫn đến ly giải tế bào qua trung gian bổ thể hoặc có thể dẫn đến phá hủy tế bào hoặc mô. Sự hoạt hóa bổ thể không thích hợp trên mô chủ đóng một vai trò quan trọng trong bệnh lý của nhiều bệnh tự miễn dịch và bệnh viêm, đồng thời cũng là nguyên nhân gây ra hoặc liên quan đến nhiều trạng thái bệnh liên quan đến tính tương hợp sinh học. Điều này được hiểu rằng hoạt hóa có thể có nghĩa là sự gia tăng hoạt động hiện có cũng như bắt đầu một hoạt động mới. Hoạt hóa bổ thể có thể xảy ra *in vitro* hoặc *in vivo*. Các chức năng mẫu của bổ thể có thể được thử nghiệm và được mô tả trong bản mô tả này bao gồm thử nghiệm tán huyết và thử nghiệm để đo bất kỳ một hoặc nhiều phân tử tác động bổ thể nào, như bằng SDS PAGE, tiếp theo là nhuộm Thấm tách western hoặc Coomassie Brilliant Blue hoặc bằng ELISA. Theo một số phương án, sự hoạt hóa bổ thể bị ức chế bởi proteaza, như proteaza được mô tả trong bản mô tả này, bằng 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95% hoặc 99% hoặc hơn so với hoạt hóa bổ thể khi không có proteaza.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "ức chế hoạt hóa bổ thể" hoặc "bất hoạt bổ thể" đề cập đến sự giảm hoặc giảm chức năng hoặc hoạt động qua trung gian bổ thể của bất kỳ một hoặc nhiều con đường bổ thể bởi proteaza hoặc trong hoạt động của bất kỳ protein nào trong một con đường. Một chức năng hoặc hoạt động của bổ thể có thể xảy ra *in vitro* hoặc *in vivo*. Các chức năng mẫu của bổ thể có thể được thử nghiệm và được mô tả trong bản mô tả này bao gồm thử nghiệm tán huyết và thử nghiệm để đo bất kỳ một hoặc nhiều phân tử tác động bổ thể nào, như bằng SDS PAGE, tiếp theo là nhuộm Thấm tách western hoặc Coomassie Brilliant Blue hoặc bằng ELISA. Proteaza có thể ức chế hoạt hóa bổ thể 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% hoặc hơn. Theo các phương án khác, hoạt hóa bổ thể bị proteaza ức chế 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95% hoặc 99% hoặc hơn so với hoạt tính của bổ thể khi không có proteaza.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "protein bổ thể" hoặc "thành phần bổ thể" là protein của hệ thống bổ thể mà thực hiện chức năng bảo vệ vật chủ chống lại sự

lây nhiễm và quá trình viêm. Protein bổ thể bao gồm protein thực hiện chức năng theo con đường cổ điển, protein thực hiện chức năng theo con đường thay thế và protein thực hiện chức năng theo con đường lectin. Trong số các protein bổ thể có proteaza tham gia vào con đường bổ thể.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, protein bổ thể bao gồm bất kỳ trong các "sản phẩm phân cắt" (còn được gọi là "mảnh") được tạo thành khi hoạt hóa dòng bổ sung. Cũng bao gồm trong số các protein bổ thể là các dạng protein bổ thể không hoạt động hoặc bị thay đổi, như iC3b và C3a-desArg. Do đó, các protein bổ thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở: C1q, C1r, C1s, C2, C3, C3a, C3b, C3c, C3dg, C3g, C3d, C3f, iC3, C3a-desArg, C4, C4a, C4b, iC4, C4a-desArg, C5, C5a, C5a-des-Arg, C6, C7, C8, C9, MASP-1, MASP-2, MBL, Yếu tố B, Yếu tố D, Yếu tố H, Yếu tố I, CR1, CR2, CR3, CR4, properdin, C1Inh, C4bp, MCP, DAF, CD59 (MIRL), clusterin và HRF và các biến thể allelic và loài của protein bổ thể bất kỳ.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, dạng "tự nhiên" của protein bổ thể là dạng mà có thể được phân lập từ sinh vật như động vật có xương sống khi không hoạt hóa bổ thể và chưa được con người cố ý sửa đổi trong phòng thí nghiệm. Ví dụ về các protein bổ thể tự nhiên bao gồm C1q, C1r, C1s, C2, C3, C4, Yếu tố B, Yếu tố D, thích hợpdin, C5, C6, C7, C6, và C9.

Thông thường, "protein bổ thể tự nhiên" bất hoạt và có hoạt tính khi hoạt hóa. Quá trình hoạt hóa có thể yêu cầu phân cắt hoạt hóa, phân cắt thành thục và/hoặc tạo thành phức hợp với các protein khác. Ngoại lệ cho điều này là yếu tố I và yếu tố D có hoạt tính enzym ở dạng tự nhiên của chúng. Trong một số ví dụ, sự hoạt hóa protein bổ thể tự nhiên xảy ra sau khi protein bị phân cắt. Ví dụ, hợp tử bổ thể như C3 là proteaza tự được hoạt hóa bằng cách phân cắt proteaza sao cho sự phân cắt C3 bởi C3 convertaza C4b2b tạo ra mảnh hoạt tính C3a và C3b. Trong ví dụ khác, sự phân cắt của protein bổ thể tự nhiên bất hoạt dẫn đến thay đổi trong sự ổn định cấu trúc của protein dẫn đến sự hoạt hóa của protein. Ví dụ, C3 chứa liên kết thioeste bên trong mà trong protein tự nhiên là ổn định, nhưng có thể trở nên phản ứng và hoạt hóa cao sau thay đổi cấu trúc do sự phân cắt của protein. Do đó, sản phẩm phân cắt của C3 có hoạt tính sinh học. Sự hoạt hóa của C3 cũng có thể xảy ra một cách tự phát khi không có sự phân cắt. Đó là sự chuyển đổi tự phát của liên kết thioeste trong C3 tự nhiên là sự kiện khởi đầu của con đường thay thế bổ thể. Trong ví dụ khác, sự hoạt hóa của protein bổ thể tự nhiên xảy ra

sau khi giải phóng phân tử điều hòa phức tạp ức chế hoạt tính của protein bổ thể tự nhiên có hoạt tính khác. Ví dụ, C1inh liên kết với và bất hoạt C1s và C1r, trừ khi chúng tạo phức với C1q.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "sự phân cắt trưởng thành" là thuật ngữ chung đề cập đến bất kỳ sự phân cắt nào cần thiết để hoạt hóa tiền enzym. Điều này bao gồm sự phân cắt dẫn đến thay đổi cấu trúc dẫn đến hoạt động (tức là sự phân cắt hoạt hóa). Nó cũng bao gồm sự phân cắt trong đó vị trí liên kết quan trọng được tiếp xúc hoặc một trở ngại steric được phơi bày hoặc một phân đoạn ức chế bị loại bỏ hoặc di chuyển.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "dạng biến đổi" của protein bổ thể dùng để chỉ protein bổ thể mà có mặt ở dạng không tự nhiên thu được từ việc biến đổi cấu trúc phân tử của nó. Ví dụ, phản ứng C3 của thioeste với nước có thể xảy ra khi không có sự phân cắt convertaza, tạo ra dạng bất hoạt thủy phân của C3 được gọi là iC3. Trong một ví dụ khác, các anaphylatoxin bao gồm C3a, C5a và C4a có thể được khử nguồn gốc bởi carboxypeptidaza N thành chất ổn định hơn, dạng ít hoạt hóa.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, “mảnh” hoặc “sản phẩm phân cắt” của protein bổ thể là vùng hoặc phân đoạn của protein bổ thể chứa một phần trình tự polypeptit của protein bổ thể tự nhiên. Mảnh protein bổ thể thường dẫn đến sau sự hoạt hóa của một dòng bổ thể. Nói chung, một đoạn là kết quả của sự phân cắt protein của một protein bổ thể bản địa. Ví dụ, protein bổ thể C3 bị enzym C3 convertaza phân cắt, dẫn đến hai đoạn: C3a tạo nên phần đầu N của C3; và C3b tạo thành phần tận cùng C và chứa vị trí serine proteaza. Một đoạn của protein bổ thể cũng là kết quả của sự phân cắt protein của một đoạn protein bổ thể khác. Ví dụ, C3b, một đoạn được tạo ra từ sự phân cắt của C3, được phân cắt bởi Yếu tố I để tạo ra các đoạn iC3b và C3f. Nói chung các sản phẩm phân cắt của protein bổ thể là các sản phẩm hoạt động sinh học và có chức năng như các phân tử tác động phân cắt của hệ thống bổ thể. Do đó, một đoạn hoặc một phần của protein bổ thể bao gồm các sản phẩm phân cắt của protein bổ thể và cả các phần của protein giữ lại hoặc thể hiện ít nhất một hoạt tính của protein bổ thể.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, “phân tử tác động phân cắt” hoặc “protein tác động phân cắt” dùng để chỉ sản phẩm phân cắt hoạt hóa được tạo ra như là kết quả của tầng enzym được hoạt hóa của hệ thống bổ thể. Phân tử tác động phân cắt, mảnh hoặc sản phẩm phân cắt do hoạt hóa bổ thể có thể đóng góp vào bất kỳ trong số một

hoặc nhiều chức năng hoặc hoạt động qua trung gian bổ thể, bao gồm opso hóa, anaphylatoxin, ly giải tế bào và viêm. Ví dụ về sự phân cắt hoặc phân tử tác động bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, C3a, C3b, C4a, C4b, C5a, C5b-9 và Bb. Phân tử tác động phân cắt của hệ thống bổ thể, nhờ tham gia vào dòng tầng, thể hiện hoạt tính bao gồm kích thích viêm, tạo điều kiện cho quá trình thực bào kháng nguyên và phân ly trực tiếp một số tế bào. Sản phẩm phân cắt bổ thể thúc đẩy hoặc tham gia vào việc hoạt hóa con đường bổ thể.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "anaphylatoxin" là protein tác động phân cắt hoạt hóa sự phân hủy hoặc giải phóng chất từ tế bào mast hoặc basophil, tham gia vào phản ứng viêm, đặc biệt là một phần của việc bảo vệ chống lại ký sinh trùng. Nếu sự phân hủy quá mạnh, nó có thể gây ra các phản ứng dị ứng. Các anaphylatoxin bao gồm, ví dụ, C3a, C4a và C5a. Anaphylatoxin cũng gián tiếp làm trung gian co thắt của tế bào cơ trơn (như co thắt phế quản), tăng tính thấm của mao mạch máu và chống hóa chất.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "chemotaxis" dùng để chỉ sự di chuyển qua trung gian thụ thể của bạch cầu đối với chất hóa trị thường theo hướng tăng nồng độ của nó, như theo hướng tăng nồng độ của anaphylatoxin.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "opsonin hóa" dùng để chỉ sự thay đổi của bề mặt của chất gây bệnh hoặc hạt khác sao cho nó có thể được thực bào tiêu hóa. Protein liên kết hoặc thay đổi bề mặt của mầm bệnh được gọi là opsonin. Các protein kháng thể và bổ thể làm mờ vi khuẩn ngoại bào để các thực bào như bạch cầu trung tính và đại thực bào hấp thu và tiêu diệt.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "phân giải tế bào" dùng để chỉ sự làm gãy mở tế bào bằng cách phá hủy thành hoặc màng của nó. Sự tan máu của tế bào hồng cầu là biện pháp của phân giải tế bào.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, “protein bổ thể C3” hoặc “C3” dùng để chỉ protein bổ thể C3 của hệ thống bổ thể mà thực hiện chức năng trong cơ chế bảo vệ vật chủ chống lại lây nhiễm và trong quá trình viêm. Protein bổ thể của người C3 là tiền proprotein hoặc tiền enzym chuỗi đơn axit amin 1663 được nêu trong SEQ ID NO:47 chứa peptit tín hiệu axit amin 22 (axit amin 1-22 của SEQ ID NO:47) và trình tự tetra-arginin (axit amin 678-671 của SEQ ID NO:47) bị loại bỏ bởi enzym giống furin, dẫn

đến protein hai chuỗi trưởng thành chứa chuỗi beta (axit amin 23-667 của SEQ ID NO:47) và chuỗi alpha (axit amin 672-1663 của SEQ ID NO:47) được liên kết bằng liên kết disulfua giữa các gốc C559 và C816. Protein bổ thể C3 còn được hoạt hóa bằng cách phân cắt protein bằng convertaza C3 (C4b2b hoặc C3bBb) giữa các axit amin 748 và 749 của SEQ ID NO: 47 tạo ra anaphylatoxin C3a và opsonin C3b.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "tiền enzym" dùng để chỉ protein mà được hoạt hóa bằng cách phân cắt protein, bao gồm phân cắt trưởng thành, như phân cắt hoạt hóa, và/hoặc tạo phức với (các) protein và/hoặc (các) đồng yếu tố khác. Tiền enzym là tiền chất bất hoạt của protein. Tiền chất như vậy thường lớn hơn, mặc dù không nhất thiết phải lớn hơn so với dạng hoạt động. Liên quan đến u-PA hoặc protein bổ thể C3, tiền enzym được chuyển đổi thành các enzym hoạt động bằng cách phân cắt cụ thể, bao gồm phân cắt xúc tác và tự xúc tác, hoặc bằng cách liên kết với đồng yếu tố hoạt hóa, tạo ra enzym hoạt động. Do đó, tiền enzym là một protein không hoạt động về mặt enzym được chuyển thành enzym phân giải protein nhờ tác động của chất hoạt hóa. Sự phân cắt có thể được thực hiện tự động. Một số protein bổ thể là hợp tử; chúng không hoạt động, nhưng bị phân cắt và hoạt hóa khi khởi động hệ thống bổ thể sau khi nhiễm trùng. Nói chung, tiền enzym không hoạt động và có thể được chuyển đổi thành các polypeptit hoạt động trưởng thành bằng cách phân cắt xúc tác hoặc tự xúc tác của vùng từ tiền enzym.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "proregion", "propeptit" hoặc "trình tự pro", đề cập đến vùng hoặc mảnh của protein được phân cắt để tạo ra một protein trưởng thành. Điều này có thể bao gồm các phân đoạn có chức năng ngăn chặn hoạt động của enzym bằng cách che đi bộ máy xúc tác và do đó ngăn cản sự hình thành chất trung gian xúc tác (tức là bằng cách đóng chặt vị trí liên kết cơ chất). Một vùng là một chuỗi các axit amin được định vị ở đầu tận amin của một polypeptit trưởng thành có hoạt tính sinh học và có thể chỉ là một vài axit amin hoặc có thể là cấu trúc đa miền.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "trình tự hoạt hóa" dùng để chỉ trình tự của axit amin trong tiền enzym mà vị trí yêu cầu để phân cắt hoạt hóa hoặc phân cắt trưởng thành để tạo thành proteaza hoạt tính. Sự phân cắt của trình tự hoạt hóa có thể được xúc tác tự xúc tác hoặc bằng cách hoạt hóa đối tác. Sự phân cắt hoạt hóa là loại phân cắt trưởng thành trong đó xảy ra sự thay đổi cấu trúc cần thiết cho hoạt động. Đây là con đường hoạt hóa cổ điển, ví dụ, đối với proteaza serin trong đó sự phân cắt tạo ra

đầu tận N mới tương tác với vùng được bảo toàn của máy xúc tác, như gốc xúc tác, để tạo ra thay đổi cấu trúc cần thiết cho hoạt tính. Sự hoạt hóa có thể dẫn đến sản xuất dạng proteaza đa chuỗi. Trong một số trường hợp, dạng chuỗi đơn của proteaza có thể biểu hiện hoạt tính phân giải protein.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "miền" dùng để chỉ một phần của phân tử, như protein hoặc axit nucleic mã hóa, khác biệt về cấu trúc và/hoặc chức năng với các phần khác của phân tử và có thể nhận dạng được. Miền polypeptit làm ví dụ là một phần của polypeptit có thể hình thành cấu trúc gấp khúc độc lập bên trong polypeptit được tạo thành từ một hoặc nhiều mô típ cấu trúc (ví dụ, sự kết hợp của các xoắn alpha và/hoặc sợi beta được nối với nhau bởi các vùng mạch vòng) và/hoặc đó là được công nhận bởi một hoạt động chức năng cụ thể, như hoạt động của enzym, sự đime hóa hoặc liên kết cơ chất. Một polypeptit có thể có một hoặc nhiều, thường là nhiều hơn một, miền riêng biệt. Ví dụ, polypeptit có thể có một hoặc nhiều miền cấu trúc và một hoặc nhiều miền chức năng. Một miền polypeptit đơn lẻ có thể được phân biệt dựa trên cấu trúc và chức năng. Một miền có thể bao gồm một chuỗi axit amin mạch thẳng liền nhau. Ngoài ra, miền có thể bao gồm nhiều phần axit amin không liền kề, không tiếp giáp dọc theo trình tự mạch thẳng của axit amin của polypeptit. Thông thường, một polypeptit chứa nhiều miền. Ví dụ, proteaza serine có thể được đặc trưng dựa trên trình tự của (các) miền proteaza. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này quen thuộc với các miền polypeptit và có thể xác định chúng nhờ sự tương đồng về cấu trúc và/hoặc chức năng với các miền khác như vậy. Để làm ví dụ trong bản mô tả này, các định nghĩa được cung cấp, nhưng người ta hiểu rằng việc nhận ra các lĩnh vực cụ thể theo tên là một việc làm tốt trong lĩnh vực này. Nếu cần, có thể sử dụng phần mềm thích hợp để xác định miền.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "vùng cấu trúc" của polypeptit là vùng của polypeptit chứa ít nhất một miền cấu trúc.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, “miền proteaza” là phần có hoạt tính xúc tác của proteaza. Tham chiếu đến miền proteaza của proteaza bao gồm dạng đơn, hai và nhiều chuỗi của bất kỳ trong số các protein này. Miền proteaza của protein chứa tất cả các đặc tính cần thiết của protein đó cần thiết cho hoạt động phân giải protein của nó, như trung tâm xúc tác của nó.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "phần có hoạt tính xúc tác" hoặc "miền có hoạt tính xúc tác" của proteaza, ví dụ polypeptit u-PA, dùng để chỉ miền proteaza, hoặc mảnh hoặc phần bất kỳ của chúng giữ lại hoạt tính của proteaza. Ví dụ, phần có hoạt tính xúc tác của polypeptit u-PA có thể là miền proteaza u-PA bao gồm dạng chuỗi đơn phân lập của miền proteaza hoặc dạng hai chuỗi được hoạt hóa. Đáng kể là, ít nhất là *in vitro*, dạng chuỗi đơn của proteaza và miền xúc tác hoặc phần có hoạt tính phân giải protein của chúng (thường là đoạn cắt đầu tận C) thể hiện hoạt tính proteaza.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "axit nucleic mã hóa miền proteaza hoặc phần có hoạt tính xúc tác của proteaza" dùng để chỉ axit nucleic chỉ mã hóa miền proteaza đơn chuỗi được chỉ ra hoặc phần hoạt hóa của chúng, và không các phần liền kề khác của proteaza như một trình tự liên tục.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, chỉ ra rằng polypeptit về cơ bản bao gồm miền proteaza có nghĩa là phần duy nhất của polypeptit là miền proteaza hoặc phần có hoạt tính xúc tác của nó. Polypeptit có thể tùy ý, và thường bao gồm các trình tự bổ sung không có nguồn gốc từ proteaza của các axit amin.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "vị trí hoạt hóa của proteaza" dùng để chỉ vị trí liên kết cơ chất trong đó xảy ra xúc tác của cơ chất. Cấu trúc và đặc tính hóa học của vị trí hoạt động cho phép nhận biết và liên kết cơ chất, sau đó thủy phân và phân cắt liên kết dạng kéo trong cơ chất. Vị trí hoạt động của proteaza chứa các axit amin đóng góp vào cơ chế xúc tác của sự phân cắt peptit, như axit amin Gln His Ala Arg Ala Ser His Leu (vị trí hoạt động của C3; các gốc 737-744 của SEQ ID NO: 47) cũng như các axit amin góp phần nhận biết trình tự cơ chất, như các axit amin góp phần mở rộng độ đặc hiệu liên kết cơ chất. Ví dụ, sự phân cắt ở vị trí hoạt động của C3 có thể ức chế hoạt động của nó, như:

Q H A R ↓ A S H L (gốc 737-744 của SEQ ID NO:47)

P4 P3 P2 P1 ↓ P1' P2' P3' P4'.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "vị trí nhận biết cơ chất" hoặc "trình tự phân cắt" dùng để chỉ trình tự được nhận biết bởi vị trí hoạt động của proteaza được phân cắt bởi proteaza. Thông thường, trình tự phân cắt đối với serin proteaza dài sáu gốc để phù hợp với đặc tính cơ chất mở rộng của nhiều proteaza, nhưng có thể dài hơn hoặc ngắn hơn tùy thuộc vào proteaza. Thông thường, ví dụ, đối với serin proteaza, trình

tự phân cắt được tạo thành từ axit amin P1-P4 và P1'-P4' trong cơ chất, nơi sự phân cắt xảy ra sau vị trí P1. Thông thường, ví dụ, đối với serin proteaza, trình tự phân cắt được tạo thành từ axit amin P1-P4 và P1'-P4' trong cơ chất, nơi sự phân cắt xảy ra sau vị trí P1. Thông thường, trình tự phân cắt cho serin proteaza dài sáu gốc để phù hợp với đặc tính cơ chất mở rộng của nhiều proteaza, nhưng có thể dài hơn hoặc ngắn hơn tùy thuộc vào proteaza.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "cơ chất đích" dùng để chỉ cơ chất mà được phân cắt bằng proteaza. Thông thường, cơ chất đích được phân cắt cụ thể tại vị trí nhận dạng cơ chất của nó bởi proteaza. Tối thiểu, cơ chất đích bao gồm các axit amin tạo nên trình tự phân cắt. Tùy chọn, cơ chất đích bao gồm một peptit chứa trình tự phân cắt và bất kỳ axit amin nào khác. Một protein có chiều dài đầy đủ, biến thể allelic, isoform, hoặc bất kỳ phần nào của chúng, chứa trình tự phân cắt được nhận biết bởi proteaza, là cơ chất đích cho proteaza đó. Ví dụ, đối với các mục đích trong bản mô tả này nhằm mục đích bất hoạt bổ thể, cơ chất đích là protein bổ thể C3, hoặc bất kỳ phần hoặc đoạn nào của nó chứa trình tự phân cắt được polypeptit u-PA nhận biết. Các cơ chất đích như vậy có thể là các protein đã được tinh sạch, hoặc có thể có trong một hỗn hợp, như hỗn hợp *in vitro* hoặc hỗn hợp *in vivo*. Hỗn hợp có thể bao gồm, ví dụ, máu hoặc huyết thanh, hoặc các chất lỏng mô khác. Ngoài ra, cơ chất đích bao gồm một peptit hoặc protein chứa một gốc bổ sung mà không ảnh hưởng đến sự phân cắt của cơ chất bởi một proteaza. Ví dụ, cơ chất đích có thể bao gồm một peptit bốn axit amin hoặc một protein có chiều dài đầy đủ được liên kết hóa học với một gốc flogen. Các proteaza có thể được sửa đổi để thể hiện độ đặc hiệu cơ chất cao hơn cho một cơ chất đích.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "u-PA" hoặc "uPA" hoặc "polypeptit u-PA" dùng để chỉ polypeptit u-PA bất kỳ bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, polypeptit được sản xuất tái tổ hợp, polypeptit được sản xuất tổng hợp và polypeptit u-PA được chiết xuất hoặc phân lập từ tế bào hoặc mô bao gồm, nhưng không giới hạn ở, gan và máu. Tên thay thế được sử dụng thay đổi cho u-PA bao gồm urokinaza và chất hoạt hóa plasminogen tiết niệu và chất hoạt hóa plasminogen urokinaza và chất hoạt hóa plasminogen loại tiết niệu và chất hoạt hóa plasminogen loại urokinaza. u-PA bao gồm polypeptit liên quan từ các loài khác nhau, bao gồm nhưng không giới hạn ở động vật có nguồn gốc từ người và không phải người. u-PA của người bao gồm u-PA, biến thể alen, đồng dạng, phân tử tổng hợp từ axit nucleic, protein được phân lập từ mô và tế bào

của người, và dạng biến đổi của chúng. Polypeptit u-PA của người không biến đổi làm ví dụ bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, polypeptit u-PA trưởng thành kiểu dại và chưa biến đổi (SEQ ID NO:3), polypeptit u-PA tiền chất kiểu dại và không biến đổi bao gồm propeptit/hoặc peptit tín hiệu (như polypeptit u-PA được nêu trong SEQ ID NO:1) và miền proteaza (như miền u-PA proteaza được nêu trong SEQ ID NO: 2). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng vị trí được tham chiếu của polypeptit u-PA trưởng thành (SEQ ID NO:3) khác biệt bởi 20 gốc axit amin khi so sánh với polypeptit u-PA tiền chất (SEQ ID NO:1), là polypeptit u-PA chứa trình tự peptit tín hiệu. Do đó, gốc axit amin đầu tiên của SEQ ID NO:3 "tương ứng với" gốc axit amin thứ hai mươi mốt (thứ 21) của SEQ ID NO:1.

Trích dẫn "u-PA" bao gồm dạng hoạt hóa hoặc hai chuỗi của polypeptit u-PA chứa chuỗi A đầu tận N (axit amin 1-158 của SEQ ID NO:3) và chuỗi B đầu tận C (axit amin 159-411 của SEQ ID NO:3) được liên kết bằng liên kết disulfua nằm trong khoảng từ gốc 148C đến 279C (tương ứng với polypeptit u-PA trưởng thành được nêu trong SEQ ID NO:3). Dạng hai chuỗi, hoặc u-PA khối lượng phân tử cao (HMW), được tạo thành từ polypeptit u-PA trưởng thành (*ví dụ*, được nêu trong SEQ ID NO:3) bằng cách phân cắt thủy phân protein sau gốc axit amin Lys158 trước gốc Ile159. Sự phân cắt protein có thể được thực hiện, ví dụ, bằng plasmin, kallikrein, cathepsin B, matriptase và yếu tố tăng trưởng thần kinh-gamma. Các polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sửa đổi thêm, như bằng cách sửa đổi hóa học hoặc sửa đổi sau dịch mã. Những sửa đổi như vậy bao gồm, nhưng không giới hạn ở, glycosyl hóa, pegylation, albumination, farnysyl hóa, carboxyl hóa, hydroxyl hóa, phosphoryl hóa, và các biến đổi polypeptit khác đã biết trong lĩnh vực này.

u-PA bao gồm u-PA từ loài bất kỳ, bao gồm người và loài không phải người. Polypeptit u-PA có nguồn gốc không phải người bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, chuột, chó, thỏ, gia cầm, bò, cừu, lợn và các polypeptit u-PA linh trưởng khác. Polypeptit u-PA làm ví dụ có nguồn gốc không phải người bao gồm, ví dụ, chuột (*Mus musculus*, SEQ ID NO:52), chuột cống (*Rattus norvegicus*, SEQ ID NO:53), bò (*Bos taurus*, SEQ ID NO:54), lợn (*Sus scrofa*, SEQ ID NO:55), thỏ (*Oryctolagus cuniculus*, SEQ ID NO:56), gà (*Gallus gallus*, SEQ ID NO:57), khỉ đầu chó màu vàng (*Papio cynocephalus*, SEQ ID NO:58), đười ươi Sumatra (*Pongo abelii*, SEQ ID NO:59), chó (*Canis lupus*, SEQ ID NO: 60), cừu (*Ovis aries*, SEQ ID NO: 61), khỉ đuôi sóc (*Callithrix jacchus*,

SEQ ID NO: 62), khỉ rhesus (*Macaca mulatta*, SEQ ID NO: 63), vượn đen má trắng phương bắc (*Nomascus leucogenys*, SEQ ID NO: 64) và tinh tinh (*Pan troglodytes*, SEQ ID NO:65).

Tham khảo với polypeptit u-PA cũng bao gồm tiền chất polypeptit và polypeptit u-PA trưởng thành ở dạng đơn chuỗi hoặc hai chuỗi, các dạng cắt ngắn của chúng mà có hoạt tính, miền proteaza cô lập và bao gồm biến thể alen và biến thể loài, các biến thể được mã hóa bởi các biến thể mối nối và các biến thể khác, bao gồm các polypeptit có ít nhất hoặc ít nhất khoảng 40%, 45%, 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% trở lên nhận dạng trình tự với polypeptit tiền chất được nêu trong SEQ ID NO: 1 hoặc dạng trưởng thành của chúng (SEQ ID NO: 3) hoặc miền proteaza của chúng (SEQ ID NO: 2). Các polypeptit u-PA bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các đồng dạng cụ thể của mô và các biến thể alen của chúng, các phân tử tổng hợp được điều chế bằng cách dịch mã các axit nucleic, các protein được tạo ra bằng tổng hợp hóa học, như tổng hợp bao gồm sự nối các polypeptit ngắn hơn, thông qua các phương pháp tái tổ hợp, protein được phân lập từ mô và tế bào của con người và không phải của con người, polypeptit u-PA thể khảm và các dạng biến đổi của chúng. Các polypeptit u-PA cũng bao gồm các đoạn hoặc các phần của u-PA có đủ chiều dài hoặc bao gồm các vùng thích hợp để giữ lại ít nhất một hoạt tính (khi hoạt hóa nếu cần) của polypeptit trưởng thành có chiều dài đầy đủ. Trong một ví dụ, phần của u-PA là miền proteaza, như miền proteaza được nêu trong SEQ ID NO: 2 tương ứng với các axit amin 179-431 của trình tự u-PA được nêu trong SEQ ID NO: 1. Các polypeptit u-PA cũng bao gồm những chất chứa các biến đổi hóa học hoặc sau chuyển hóa và những chất không chứa các biến đổi hóa học hoặc sau chuyển hóa. Những sửa đổi như vậy bao gồm, nhưng không giới hạn ở, pegylation, albumination, glycosyl hóa, farnysyl hóa, carboxyl hóa, hydroxyl hóa, phosphoryl hóa, HESyl hóa (kéo dài thời gian bán hủy bằng cách ghép nối các phân tử thuốc với tinh bột hydroxyetyl phân hủy sinh học (HES)), PASylation (liên hợp thông qua di truyền sự dung hợp hoặc kết hợp hóa học của các hợp chất có hoạt tính dược lý, như protein, peptit và thuốc có khối lượng phân tử thấp, với các polyme sinh tổng hợp bị rối loạn nguyên bản được tạo ra từ các axit amin L nhỏ Pro, Ala và/hoặc Ser), và các biến đổi polypeptit khác đã biết trong lĩnh vực này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "proteaza u-PA" hoặc "miền proteaza u-PA" dùng để chỉ polypeptit u-PA bất kỳ bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, polypeptit

được sản xuất tái tổ hợp, polypeptit được sản xuất tổng hợp và polypeptit u-PA được chiết xuất hoặc phân lập từ tế bào hoặc mô bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, gan và máu. Proteaza u-PA bao gồm polypeptit liên quan từ các loài khác nhau bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở động vật có nguồn gốc từ người và không phải người. Miền u-PA proteaza hoặc u-PA proteaza của người bao gồm u-PA, biến thể alen, đồng dạng, phân tử tổng hợp từ axit nucleic, protein được phân lập từ mô và tế bào của người, và dạng biến đổi của chúng. Miền proteaza u-PA của người tham chiếu làm ví dụ bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, miền proteaza u-PA kiểu dại và không biến đổi (SEQ ID NO:2) và miền proteaza thay thế (như miền proteaza u-PA được nêu trong SEQ ID NO:5). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng vị trí được tham chiếu của miền u-PA proteaza (SEQ ID NO:2) khác biệt bởi 178 gốc axit amin khi so sánh với polypeptit u-PA trưởng thành (SEQ ID NO:1), là polypeptit u-PA chứa trình tự WT có chiều dài đầy đủ. Do đó, gốc axit amin đầu tiên của SEQ ID NO:2 "tương ứng với" gốc axit amin thứ một trăm bảy mươi chín (thứ 179) của SEQ ID NO:1.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "biến đổi" dùng để chỉ biến đổi của trình tự axit amin của polypeptit hoặc trình tự của nucleotit trong phân tử axit nucleic và bao gồm các đoạn mất đoạn, chèn thêm và thay thế các axit amin hoặc nucleotit, tương ứng. Phương pháp sửa đổi polypeptit là thông thường đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, như bằng cách sử dụng các phương pháp tái tổ hợp ADN. Có sự phân biệt giữa sửa đổi trình tự axit amin của polypeptit và sửa đổi polypeptit. Trước đây đề cập đến sự chèn thêm, loại bỏ và thay thế hoặc thay thế axit amin; thứ sau để sửa đổi polypeptit, như sửa đổi sau dịch mã, PEGyl hóa, và các sửa đổi khác như vậy của protein để thay đổi đặc tính và/hoặc hoạt động.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "thế" hoặc "thay thế" dùng để chỉ việc thay thế một hoặc nhiều nucleotit hoặc axit amin trong trình tự axit nucleic hoặc polypeptit tự nhiên, đích, kiểu dại hoặc khác bằng nucleotit hoặc axit amin thay thế, mà không thay đổi chiều dài (như được mô tả ở số lượng gốc) của phân tử. Do đó, một hoặc nhiều thế trong phân tử không làm thay đổi số lượng gốc axit amin hoặc nucleotit của phân tử. Sự thay thế axit amin so với polypeptit cụ thể có thể được biểu hiện bằng số lượng gốc axit amin dọc theo chiều dài của trình tự polypeptit. Ví dụ, polypeptit biến đổi có biến đổi ở axit amin tại vị trí thứ 35 của trình tự axit amin là sự thế/thay thế arginin (Arg; R) bằng glutamin (Gln; Q) có thể được biểu thị là R35Q, Arg35Gln, hoặc

35Q. Đơn giản R35 có thể được sử dụng để chỉ ra rằng axit amin ở vị trí thứ 35 được biến đổi là arginin.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "u-PA biến đổi" hoặc "polypeptit u-PA biến đổi" dùng để chỉ proteaza u-PA mà thể hiện hoạt tính được thay đổi, như độ đặc hiệu của cơ chất bị thay đổi, so với dạng không bị biến đổi. Các proteaza như vậy bao gồm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 hoặc nhiều sửa đổi (tức là những thay đổi trong axit amin) so với u-PA kiểu dại làm thay đổi hoạt tính, như độ đặc hiệu hoặc tính chọn lọc của cơ chất, của proteaza u-PA để phân cắt protein bổ thể C3 bị thay đổi. U-PA được sửa đổi có thể là proteaza u-PA có chiều dài đầy đủ, hoặc có thể là một phần của nó của proteaza có chiều dài đầy đủ, như miền proteaza của u-PA, miễn là proteaza u-PA được sửa đổi chứa các sửa đổi trong các vùng làm thay đổi hoạt tính hoặc độ đặc hiệu của cơ chất của proteaza và proteaza hoạt động về mặt phân giải protein. Proteaza u-PA được sửa đổi, hoặc vùng proteaza u-PA được sửa đổi, cũng có thể bao gồm các sửa đổi khác trong các vùng không ảnh hưởng đến độ đặc hiệu của cơ chất của proteaza. Do đó, polypeptit u-PA được sửa đổi thường có 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % trình tự trở lên nhận dạng trình tự axit amin tương ứng của polypeptit u-PA kiểu dại. Polypeptit u-PA có chiều dài đầy đủ đã được sửa đổi hoặc phần có hoạt tính xúc tác của nó hoặc miền proteaza của nó của polypeptit u-PA được biến đổi có thể bao gồm các polypeptit là protein dung hợp miễn là protein dung hợp có độ đặc hiệu đích.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, việc đánh số chymotrypsin dùng để chỉ việc đánh số axit amin của polypeptit chymotrypsin trưởng thành của SEQ ID NO:76. Sự căn chỉnh của miền proteaza của proteaza khác, ví dụ như miền proteaza của u-PA, có thể được thực hiện bằng chymotrypsin. Trong trường hợp này, axit amin của polypeptit u-PA tương ứng với axit amin của chymotrypsin được đánh số của axit amin chymotrypsin. Vị trí tương ứng có thể được xác định bằng cách căn chỉnh này bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sử dụng căn chỉnh thủ công hoặc bằng cách sử dụng nhiều chương trình căn chỉnh có sẵn (ví dụ, BLASTP). Vị trí tương ứng cũng có thể dựa trên căn chỉnh cấu trúc, ví dụ bằng cách sử dụng căn chỉnh mô phỏng bằng máy tính của cấu trúc protein. Việc mô tả rằng axit amin của polypeptit tương ứng với axit amin trong trình tự được bộc lộ dùng để chỉ axit amin được xác định dựa trên căn chỉnh của polypeptit với trình tự được bộc lộ để tối multime hóa độ đồng nhất hoặc

tương đồng (trong đó axit amin bảo toàn được căn chỉnh) bằng cách sử dụng thuật toán căn chỉnh chuẩn, như thuật toán GAP. Số chymotrypsin tương ứng của vị trí axit amin 159-411 của polypeptit u-PA nêu trong SEQ ID NO:3 được cung cấp trong bảng 1. Vị trí axit amin liên quan đến trình tự nêu trong SEQ ID NO:3 là phông bình thường, gốc axit amin tại vị trí đó được in đậm và số chymotrypsin tương ứng được in nghiêng. Ví dụ, khi căn chỉnh miền serin proteaza của u-PA (SEQ ID NO:2) với chymotrypsin trưởng thành, isoleuxin (I) ở vị trí 159 trong u-PA được đánh số chymotrypsin là I16. Axit amin tiếp theo được đánh số tương ứng. Trong một ví dụ, phenylalanin (F) ở vị trí axit amin 173 của u-PA trưởng thành (SEQ ID NO:3) tương ứng với vị trí axit amin F30 dựa trên cách đánh số chymotrypsin. Trường hợp gốc tồn tại trong proteaza, nhưng không có trong chymotrypsin, gốc axit amin được ký hiệu bằng chữ cái. Ví dụ, gốc trong chymotrypsin là một phần của vòng lặp với axit amin 60 dựa trên đánh số chymotrypsin, nhưng được chèn vào trình tự u-PA so với chymotrypsin, được dùng để chỉ ví dụ như D60a, Y60b hoặc P60c. Các gốc này lần lượt tương ứng với D208, Y209 và P210 bằng cách đánh số liên quan đến trình tự u-PA trưởng thành được nêu trong SEQ ID NO:3.

Bảng 1. Đánh số chymotrypsin của u-PA

159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173
I	**I**	**G**	**G**	**E**	**F**	**T**	**T**	**I**	**E**	**N**	**Q**	**P**	**W**	**F**
16	*17*	*18*	*19*	*20*	*21*	*22*	*23*	*24*	*25*	*26*	*27*	*28*	*29*	*30*

174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188
A	**A**	**I**	**Y**	**R**	**R**	**H**	**R**	**G**	**G**	**S**	**V**	**T**	**Y**	**V**
31	*32*	*33*	*34*	*35*	*36*	*37*	*37A*	*37B*	*37C*	*37D*	*38*	*39*	*40*	*41*

189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203
C	**G**	**G**	**S**	**L**	**I**	**S**	**P**	**C**	**W**	**V**	**I**	**S**	**A**	**T**

42	*43*	*44*	*45*	*46*	*47*	*48*	*49*	*50*	*51*	*52*	*53*	*54*	*55*	*56*
204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218
H	**C**	**F**	**I**	**D**	**Y**	**P**	**K**	**K**	**E**	**D**	**Y**	**I**	**V**	**Y**
57	*58*	*59*	*60*	*60A*	*60B*	*60C*	*61*	*62*	*62A*	*63*	*64*	*65*	*66*	*67*
219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233
L	**G**	**R**	**S**	**R**	**L**	**N**	**S**	**N**	**T**	**Q**	**G**	**E**	**M**	**K**
68	*69*	*70*	*71*	*72*	*73*	*74*	*75*	*76*	*77*	*78*	*79*	*80*	*81*	*82*
234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248
F	**E**	**V**	**E**	**N**	**L**	**I**	**L**	**H**	**K**	**D**	**Y**	**S**	**A**	**D**
83	*84*	*85*	*86*	*87*	*88*	*89*	*90*	*91*	*92*	*93*	*94*	*95*	*96*	*97*
249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263
T	**L**	**A**	**H**	**H**	**N**	**D**	**I**	**A**	**L**	**L**	**K**	**I**	**R**	**S**
97A	*97B*	*98*	*99*	*100*	*101*	*102*	*103*	*104*	*105*	*106*	*107*	*108*	*109*	*110*
264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278
K	**E**	**G**	**R**	**C**	**A**	**Q**	**P**	**S**	**R**	**T**	**I**	**Q**	**T**	**I**
110A	*110B*	*110C*	*110D*	*111*	*112*	*113*	*114*	*115*	*116*	*117*	*118*	*119*	*120*	*121*

279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293
C	**L**	**P**	**S**	**M**	**Y**	**N**	**D**	**P**	**Q**	**F**	**G**	**T**	**S**	**C**
122	*123*	*124*	*125*	*126*	*127*	*128*	*129*	*130*	*131*	*132*	*133*	*134*	*135*	*136*

294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308
E	**I**	**T**	**G**	**F**	**G**	**K**	**E**	**N**	**S**	**T**	**D**	**Y**	**L**	**Y**
137	*138*	*139*	*140*	*141*	*142*	*143*	*144*	*145*	*146*	*147*	*148*	*149*	*150*	*151*

309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323
P	**E**	**Q**	**L**	**K**	**M**	**T**	**V**	**V**	**K**	**L**	**I**	**S**	**H**	**R**
152	*153*	*154*	*155*	*156*	*157*	*158*	*159*	*160*	*161*	*162*	*163*	*164*	*165*	*166*

324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338
E	**C**	**Q**	**Q**	**P**	**H**	**Y**	**Y**	**G**	**S**	**E**	**V**	**T**	**T**	**K**
167	*168*	*169*	*170*	*170A*	*170B*	*171*	*172*	*173*	*174*	*175*	*176*	*177*	*178*	*179*

339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353
M	**L**	**C**	**A**	**A**	**D**	**P**	**Q**	**W**	**K**	**T**	**D**	**S**	**C**	**Q**
180	*181*	*182*	*183*	*184*	*185*	*185A*	*185B*	*186*	*187*	*188*	*189*	*190*	*191*	*192*

354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368
G	**D**	**S**	**G**	**G**	**P**	**L**	**V**	**C**	**S**	**L**	**Q**	**G**	**R**	**M**
193	*194*	*195*	*196*	*197*	*198*	*199*	*200*	*201*	*202*	*203*	*204*	*205*	*206*	*207*

369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383
T	**L**	**T**	**G**	**I**	**V**	**S**	**W**	**G**	**R**	**G**	**C**	**A**	**L**	**K**
208	*209*	*210*	*211*	*212*	*213*	*214*	*215*	*216*	*217*	*218*	*220*	*221*	*222*	*223*

384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398
D	**K**	**P**	**G**	**V**	**Y**	**T**	**R**	**V**	**S**	**H**	**F**	**L**	**P**	**W**
223A	*224*	*225*	*226*	*227*	*228*	*229*	*230*	*231*	*232*	*233*	*234*	*235*	*236*	*237*

399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411		
I	**R**	**S**	**H**	**T**	**K**	**E**	**E**	**N**	**G**	**L**	**A**	**L**		
238	*239*	*240*	*241*	*242*	*243*	*244*	*245*	*246*	*247*	*248*	*249*	*250*		

Như được sử dụng trong bản mô tả này, k_{cat} đo hoạt tính xúc tác của enzym; đơn vị của k_{cat} là giây^{-1}. Nghịch đảo của k_{cat} là thời gian cần thiết để phân tử enzym "chuyển hóa" một phân tử cơ chất; k_{cat} đo số phân tử cơ chất được chuyển hóa với mỗi phân tử enzym trong một giây. k_{cat} đôi khi được gọi là số chuyển hóa. Trong enzym học, k_{cat} (còn được gọi là số chuyển hóa) là số lượng chuyển đổi hóa học tối đa của phân tử cơ chất trong một giây mà một vị trí xúc tác thực hiện đối với enzym nhất định. Đó là tốc độ phản ứng tối đa (V_{max}) khi tất cả các vị trí xúc tác của enzym được bão hòa với cơ chất.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, độ đặc hiệu cho cơ chất đích dùng để chỉ ưu tiên để phân cắt cơ chất đích bằng proteaza so với cơ chất khác, được gọi là cơ chất không phải đích. Độ đặc hiệu được phản ánh trong hằng số độ đặc hiệu (k_{cat}/K_m), là thước đo ái lực của proteaza đối với cơ chất của nó và hiệu quả của enzym. k_{cat}/K_m là thước đo hiệu quả của enzym; giá trị lớn của k_{cat} (quay vòng nhanh) hoặc giá trị nhỏ của K_m (ái lực cao với cơ chất) làm cho k_{cat}/K_m lớn.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, hằng số đặc hiệu cho sự phân cắt là (k_{cat}/K_m), trong đó K_m là hằng số Michaelis-Menton ([S] ở một nửa V_{max}) và k_{cat} là $V_{max}/[ET]$, trong đó ET là nồng độ enzym cuối cùng. Tham số k_{cat}, K_m và k_{cat}/K_m có thể được tính toán bằng cách vẽ biểu đồ nghịch đảo của nồng độ cơ chất so với nghịch đảo của vận tốc phân cắt cơ chất và phù hợp với phương trình Lineweaver-Burk (1/vận tốc = (K_m/V_{max}) $(1/[S]) + 1/V_{max}$; trong đó $V_{max} = [ET]$ k_{cat}). Bất kỳ phương pháp nào để xác định tốc độ tăng của sự phân cắt theo thời gian với sự có mặt của các nồng độ cơ chất khác nhau đều có thể được sử dụng để tính hằng số đặc trưng. Ví dụ, một cơ chất được liên kết với một gốc flogenic, được giải phóng khi phân cắt bởi một proteaza. Bằng cách xác định tốc độ phân cắt ở các nồng độ enzym khác nhau, k_{cat} có thể được xác định cho một proteaza cụ thể. Hằng số đặc hiệu có thể được sử dụng để xác định sự ưa thích của proteaza đối với một cơ chất đích hơn một cơ chất đích khác cơ chất.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, độ đặc hiệu cơ chất dùng để chỉ ưu tiên của proteaza cho một cơ chất đích hơn cơ chất khác. Độ đặc hiệu cơ chất có thể được đo dưới dạng tỷ lệ của các hằng số đặc trưng.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, tỷ lệ độ đặc hiệu cơ chất là tỷ lệ của hằng số độ đặc hiệu và có thể được sử dụng để so sánh đặc tính cụ thể của hai hoặc nhiều proteaza hoặc proteaza cho hai hoặc nhiều cơ chất. Ví dụ, độ đặc hiệu cơ chất của proteaza đối với cơ chất cạnh tranh hoặc của các proteaza cạnh tranh đối với cơ chất có thể được so sánh bằng cách so sánh k_{cat}/K_m. Ví dụ, proteaza có hằng số đặc hiệu là 2×10^6 $M^{-1}sec^{-1}$ đối với cơ chất đích và 2×10^4 $M^{-1}sec^{-1}$ đối với cơ chất không phải đích cụ thể hơn đối với cơ chất đích. Sử dụng hằng số độ đặc hiệu từ trên, proteaza có tỷ lệ độ đặc hiệu cơ chất là 100 cho cơ chất đích.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, ưu tiên hoặc độ đặc hiệu cơ chất cho cơ chất đích có thể được biểu hiện dưới dạng tỷ lệ độ đặc hiệu cơ chất. Giá trị cụ thể của tỷ

lệ phản ánh sự ưu tiên là chức năng của cơ chất và proteaza được quan tâm. Tỷ lệ độ đặc hiệu cơ chất lớn hơn 1 biểu thị sự ưu tiên đối với cơ chất đích và độ đặc hiệu cơ chất nhỏ hơn 1 biểu thị sự ưa thích đối với cơ chất không đích. Nhìn chung, tỷ lệ ít nhất hoặc khoảng 1 phản ánh sự khác biệt đủ để proteaza được coi là ứng viên điều trị.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, độ đặc hiệu biến đổi dùng để chỉ sự thay đổi về độ đặc hiệu cơ chất của proteaza biến đổi so với proteaza kiểu dại ban đầu. Thông thường, sự thay đổi về độ đặc hiệu là phản ánh sự thay đổi về ưu tiên của proteaza đã biến đổi đối với cơ chất đích so với cơ chất kiểu dại của proteaza (trong bản mô tả này được gọi là cơ chất không phải là cơ chất đích). Thông thường, các proteaza u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này thể hiện độ đặc hiệu của cơ chất tăng lên đối với protein bổ thể C3 so với độ đặc hiệu của cơ chất của proteaza u-PA kiểu dại. Ví dụ, một proteaza biến tính có tỷ lệ đặc hiệu cơ chất là 100 đối với cơ chất đích so với cơ chất không đích thể hiện độ đặc hiệu tăng gấp 10 lần so với proteaza khung có tỷ lệ đặc hiệu cơ chất là 10. Trong một ví dụ khác, một chất đã được sửa đổi proteaza có tỷ lệ độ đặc hiệu cơ chất là 1 so với tỷ lệ 0,1, cho thấy độ đặc hiệu cơ chất tăng gấp 10 lần. Để thể hiện độ đặc hiệu tăng lên so với proteaza khung, proteaza biến tính có 1,5 lần, 2 lần, 5 lần, 10 lần, 50 lần, 100 lần, 200 lần, 300 lần, 400 lần, độ đặc hiệu cơ chất cao hơn gấp 500 lần hoặc hơn cho bất kỳ một trong số các bổ thể protein.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "tính chọn lọc" có thể được sử dụng thay thế cho nhau với độ đặc hiệu khi dùng để chỉ khả năng của proteaza để chọn và tách một cơ chất đích ra khỏi hỗn hợp các cơ chất cạnh tranh. Tính chọn lọc tăng lên của một proteaza đối với cơ chất đích so với bất kỳ một hoặc nhiều cơ chất đích nào khác có thể được xác định, ví dụ, bằng cách so sánh các hằng số đặc hiệu của sự phân cắt của cơ chất đích bởi một proteaza. Ví dụ, nếu một proteaza có hằng số phân cắt đặc hiệu là 2 X 10^6 $M^{-1}sec^{-1}$ đối với cơ chất đích và 2 X 10^4 $M^{-1}sec^{-1}$ đối với bất kỳ cơ chất nào khác trong số các cơ chất khác, thì proteaza được chọn lọc nhiều hơn cho cơ chất đích.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "hoạt tính" hoặc "hoạt tính chức năng" của polypeptit, như proteaza, dùng để chỉ hoạt tính bất kỳ được biểu hiện bởi polypeptit. Hoạt tính này có thể được xác định theo kinh nghiệm. Hoạt tính làm ví dụ bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, khả năng tương tác với phân tử sinh học, ví dụ, thông qua liên kết cơ chất, liên kết ADN, hoặc dime hóa, hoạt tính enzym, ví dụ, hoạt tính kinaza hoặc hoạt tính phân giải protein. Đối với proteaza (bao gồm mảnh proteaza), hoạt tính

bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, khả năng liên kết cụ thể với cơ chất cụ thể, ái lực và/hoặc độ đặc hiệu của liên kết cơ chất (ví dụ, ái lực và/hoặc độ đặc hiệu cao hoặc thấp), chức năng tác động, như khả năng thúc đẩy cơ chất (ví dụ protein, tức là C3) ức chế, trung hòa, phân cắt hoặc thanh thải, và hoạt tính *in vivo*, như khả năng thúc đẩy sự phân cắt hoặc thanh thải protein. Hoạt tính có thể được đánh giá *in vitro* hoặc *in vivo* bằng cách sử dụng thử nghiệm được công nhận, như ELISA, đo tế bào dòng chảy, cộng hưởng plasmon bề mặt hoặc thử nghiệm tương đương để đo tỷ lệ bật hoặc tắt, hóa mô miễn dịch và mô học miễn dịch huỳnh quang và kính hiển vi, thử nghiệm dựa trên tế bào và thử nghiệm liên kết. Ví dụ, đối với proteaza, ví dụ, proteaza u-PA biến đổi, hoạt tính có thể được đánh giá bằng cách đo sự phân cắt protein cơ chất, chuyển hóa, hoạt tính còn lại, độ ổn định và/hoặc mức độ *in vitro* và/hoặc *in vivo*. Kết quả của thử nghiệm *in vitro* chỉ ra rằng polypeptit biểu hiện hoạt tính có thể tương quan với hoạt tính của polypeptit *in vivo*, trong đó hoạt tính *in vivo* có thể được gọi là hoạt tính điều trị hoặc hoạt tính sinh học. Hoạt tính của polypeptit đã biến đổi có thể là mức phần trăm hoạt tính bất kỳ của polypeptit chưa được biến đổi, bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở hoặc khoảng 1% hoạt tính, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20 %, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500% hoạt tính hoặc nhiều hơn so với polypeptit chưa biến tính. Thử nghiệm để xác định chức năng hoặc hoạt tính của proteaza biến đổi (hoặc biến thể) đã được biết đến trong lĩnh vực này.

Hoạt động chức năng bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, hoạt tính sinh học, hoạt tính xúc tác hoặc enzym, tính kháng nguyên (khả năng liên kết hoặc cạnh tranh với polypeptit để liên kết với kháng thể chống polypeptit), tính sinh miễn dịch, khả năng tạo thành đa phân tử và khả năng đặc hiệu liên kết với một thụ thể hoặc phối tử cho polypeptit.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, hoạt tính chức năng tham chiếu đến protein bổ thể dùng để chỉ chức năng qua trung gian bổ thể bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, sốc phản vệ, opsonin hóa, điều trị hóa chất, hoặc ly giải tế bào. Ví dụ của thử nghiệm để kiểm tra hoạt tính của hoạt tính bổ thể bao gồm sự tan máu của tế bào hồng cầu và phát hiện phân tử tác động bổ thể như bằng ELISA hoặc SDS-PAGE.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, hoạt tính xúc tác hoặc hoạt tính phân cắt dùng để chỉ hoạt tính của proteaza được đánh giá trong thử nghiệm phân giải protein *in*

vitro để phát hiện sự phân giải protein của cơ chất đã chọn. Hoạt tính phân cắt có thể được đo bằng cách đánh giá hiệu suất xúc tác của proteaza.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, hoạt tính hướng tới cơ chất đích dùng để chỉ hoạt động phân cắt và/hoặc hoạt động chức năng, hoặc phép đo khác phản ánh hoạt động của proteaza trên hoặc đối với cơ chất đích. Hoạt động chức năng của cơ chất đích protein bổ thể bằng proteaza có thể được đo bằng cách đánh giá IC50 trong một thử nghiệm bổ thể, như phân giải tế bào hồng cầu, hoặc các thử nghiệm khác được biết đến bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hoặc được đề xuất trong bản mô tả này để đánh giá hoạt tính của bổ thể. Hoạt tính phân cắt có thể được đo bằng cách đánh giá hiệu quả xúc tác của một proteaza. Đối với các mục đích trong bản mô tả này, hoạt tính được tăng lên nếu proteaza biểu hiện sự phân hủy protein hoặc phân cắt lớn hơn của cơ chất đích và/hoặc điều chỉnh (tức là hoạt hóa hoặc ức chế) hoạt động chức năng của protein bổ thể so với khi không có proteaza.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "hoạt tính tăng" tham chiếu đến polypeptit u-PA biến đổi có nghĩa là, khi được thử nghiệm trong cùng điều kiện, polypeptit u-PA biến đổi biểu hiện hoạt tính lớn hơn so với polypeptit u-PA không được biến đổi không chứa (các) thay thế axit amin. Ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi biểu hiện ít nhất hoặc khoảng ít nhất 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 160%, 170%, 180%, 190%, 200%, 250%, 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900%, 1000% hoặc nhiều hơn hoạt tính của polypeptit u-PA không được biến đổi hoặc tham chiếu.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "cùng," khi được dùng để chỉ ái lực liên kết kháng thể, có nghĩa là EC_{50}, hằng số liên kết (Ka) hoặc hằng số phân ly (Kd) nằm trong khoảng từ 1 đến 100 lần hoặc từ 1 đến 10 lần của kháng thể tham chiếu (ái lực lớn hơn 1-100 lần hoặc ái lực nhỏ hơn 1-100 lần, hoặc giá trị bằng số bất kỳ hoặc khoảng hoặc giá trị trong khoảng này, so với kháng thể tham chiếu).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "hoạt tính liên kết" dùng để chỉ đặc trưng của phân tử, *ví dụ*, polypeptit, liên quan đến việc có hay không và bằng cách nào, nó liên kết với một hoặc nhiều đối tác liên kết. Hoạt tính liên kết bao gồm khả năng liên kết (các) đối tác liên kết, ái lực mà nó liên kết với đối tác liên kết (ví dụ, ái lực cao), độ bền của liên kết với đối tác liên kết và/hoặc độ đặc hiệu để liên kết với đối tác liên kết.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, EC_{50}, còn được gọi là Kd biểu kiến, là nồng độ (ví dụ, nM) của proteaza, trong đó 50% hoạt tính tối đa được quan sát trên lượng cơ chất cố định (ví dụ, nồng độ của polypeptit u-PA biến đổi cần thiết để phân cắt qua 50% hC3 có sẵn). Thông thường, các giá trị EC_{50} được xác định từ các đường cong đáp ứng liều sigmoidal, trong đó EC_{50} là nồng độ tại điểm uốn. Ái lực proteaza cao đối với cơ chất của nó tương quan với giá trị EC_{50} thấp và ái lực thấp tương ứng với giá trị EC_{50} cao. Hằng số ái lực có thể được xác định bằng phương pháp luận động học tiêu chuẩn cho các phản ứng proteaza, ví dụ, thử nghiệm miễn dịch, như ELISA, sau đó là phân tích phù hợp đường cong.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "hằng số ái lực" dùng để chỉ hằng số liên kết (Ka) được sử dụng để đo ái lực hoặc độ bền liên kết phân tử giữa proteaza và cơ chất. Hằng số ái lực càng cao ái lực của proteaza với cơ chất càng lớn. Hằng số ái lực được biểu hiện ở đơn vị của nồng độ mol tương hỗ (tức là, M^{-1}) và có thể được tính toán từ hằng số tốc độ cho phản ứng phân ly liên kết như được đo bằng phương pháp động học tiêu chuẩn đối với phản ứng proteaza-cơ chất (ví dụ, thử nghiệm miễn dịch, cộng hưởng plasmon bề mặt hoặc các thử nghiệm tương tác động học khác đã biết trong kỹ thuật). Ái lực liên kết của một proteaza cũng có thể được biểu thị dưới dạng hằng số phân ly, hoặc Kd. Hằng số phân ly là nghịch đảo của hằng số liên kết, Kd = 1/Ka. Do đó, hằng số ái lực cũng có thể được biểu thị bằng Kd. Hằng số ái lực có thể được xác định bằng phương pháp động học tiêu chuẩn cho các phản ứng proteaza, ví dụ, thử nghiệm miễn dịch, cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) (Rich and Myszka (2000) Curr. Opin. Biotechnol 11:54; Englebienne (1998) Analyst. 123:1599), phép đo nhiệt lượng chuẩn độ đẳng nhiệt (ITC) hoặc các phép thử tương tác động học khác được biết đến trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, Paul, ed., Fundamental Immunology, 2nd ed., Raven Press, New York, pages 332-336 (1989)). Các thiết bị và phương pháp phát hiện thời gian thực và theo dõi các tỷ lệ ràng buộc đã được biết đến và có sẵn trên thị trường (*ví dụ*, BIAcore 2000, BIAcore AB, Uppsala, Sweden and GE Healthcare Life Sciences; Malmqvist (2000) *Biochem. Soc. Trans.* 27:335).

Phương pháp tính toán ái lực đã được biết đến, như phương pháp xác định giá trị EC_{50} hoặc phương pháp xác định hằng số liên kết/phân ly, bao gồm cả phương pháp được làm ví dụ trong bản mô tả này. Ví dụ, đối với EC_{50}, ái lực liên kết cao có nghĩa là proteaza liên kết đặc biệt với protein đích có EC_{50} nhỏ hơn khoảng 10 ng/mL, 9 ng/mL,

8 ng/mL, 7 ng/mL, 6 ng/mL, 5 ng/mL, 3 ng/mL, 2 ng/mL, 1 ng/mL hoặc ít hơn. Ái lực liên kết cao cũng có thể được đặc trưng bởi hằng số phân ly cân bằng (Kd) là 10^{-6} M hoặc thấp hơn, như 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M hoặc 10^{-12} M hoặc thấp hơn. Về hằng số liên kết cân bằng (Ka), ái lực liên kết cao thường được liên kết với giá trị Ka lớn hơn hoặc bằng khoảng 10^6 M^{-1}, lớn hơn hoặc bằng khoảng 10^7 M^{-1}, lớn hơn hoặc bằng khoảng 10^8 M^{-1}, hoặc lớn hơn hoặc bằng khoảng 10^9 M^{-1}, 10^{10} M^{-1}, 10^{11} M^{-1} hoặc 10^{12} M^{-1}. Ái lực có thể được ước tính theo kinh nghiệm hoặc ái lực có thể được xác định một cách tương đối, ví dụ, bằng cách so sánh ái lực của hai hoặc nhiều kháng thể đối với kháng nguyên cụ thể, ví dụ, bằng cách tính toán tỷ lệ từng cặp của ái lực của kháng thể được thử nghiệm. Ví dụ, ái lực này có thể được xác định dễ dàng bằng cách sử dụng kỹ thuật thông thường, như bằng ELISA; thẩm tách cân bằng; cộng hưởng plasmon bề mặt; bằng thử nghiệm miễn dịch phóng xạ sử dụng kháng nguyên đích được gắn nhãn phóng xạ; hoặc bằng phương pháp khác mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết. Ví dụ, dữ liệu ái lực có thể được phân tích bằng phương pháp của Scatchard *et al., Ann N.Y. Acad. Sci.*, 51:660 (1949) hoặc bằng phân tích phù hợp đường cong, sử dụng mô hình hồi quy phi tuyến tính logistic 4 tham số sử dụng phương trình: y = ((AD)/(1+((x/C)^B))) + D, trong đó A là đường tiệm cận nhỏ nhất, B là yếu tố góc, C là điểm uốn (EC_{50}) và D là đường tiệm cận tối đa.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "ED_{50}" là liều (*ví dụ,* mg/kg hoặc nM) của proteaza (*ví dụ,* u-PA biến đổi) tạo ra kết quả cụ thể (*ví dụ,* sự phân cắt của protein bổ thể C3) trong 50% tổng quần thể (ví dụ, tổng lượng C3 có trong mẫu).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "cộng hưởng plasmon bề mặt" dùng để chỉ hiện tượng quang học cho phép phân tích tương tác trong thời gian thực bằng cách phát hiện sự thay đổi nồng độ protein trong ma trận cảm biến sinh học, ví dụ, bằng cách sử dụng hệ thống BIAcore (GE Healthcare Life Sciences).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, protein của người là được mã hóa bằng phân tử axit nucleic, như ADN, có mặt trong bộ gen của người, bao gồm tất cả các biến thể alen và biến thể bảo toàn của chúng. Biến thể hoặc biến đổi của protein là protein của người nếu biến đổi dựa trên kiểu dại hoặc trình tự nổi bật của protein của người.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, gốc α-axit amin tự nhiên là gốc của 20 α-axit amin được tìm thấy trong tự nhiên được kết hợp vào protein bằng sự nhận biết cụ thể của phân tử tARN tích điện với codon mARN cùng nguồn gốc của nó trong người.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, axit amin không có trong tự nhiên dùng để chỉ axit amin mà không được mã hóa về mặt di truyền.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "axit nucleic" dùng để chỉ ít nhất hai nucleotit hoặc dẫn xuất nucleotit được liên kết, bao gồm axit deoxyribonucleic (ADN) và axit ribonucleic (ARN) và các chất tương tự của chúng, liên kết với nhau, thường bằng liên kết phosphodiester. Cũng được bao gồm trong thuật ngữ "axit nucleic" là các chất tương tự của axit nucleic như axit nucleic peptit (APN), ADN phosphorothioate, và các chất tương tự khác và các dẫn xuất hoặc kết hợp của chúng. Axit nucleic cũng bao gồm các dẫn xuất ADN và ARN có chứa, ví dụ, chất tương tự nucleotide hoặc liên kết "xương sống" khác với liên kết phosphodiester, ví dụ, liên kết phosphotriester, liên kết phosphoramidate, liên kết phosphorothioate, liên kết thioester hoặc peptit liên kết (axit nucleic peptit). Thuật ngữ này cũng bao gồm các chất tương đương, các dẫn xuất, các biến thể và các chất tương tự của ARN hoặc ADN được tạo ra từ các chất tương tự nucleotit, axit nucleic đơn (cảm giác hoặc phản ứng) và chuỗi kép. Deoxyribonucleotit bao gồm deoxyadenosine, deoxycytidine, deoxyguanosine và deoxythymidine. Đối với ARN, gốc uracil là uridine. Axit nucleic có thể là đơn hoặc mạch kép. Khi đề cập đến các đầu dò hoặc chất mồi, được dán nhãn tùy ý, như nhãn có thể phát hiện được, như nhãn huỳnh quang hoặc nhãn phóng xạ, các phân tử sợi đơn được đề cập đến. Các phân tử như vậy thường có độ dài sao cho đích của chúng là duy nhất về mặt thống kê hoặc có số lượng bản sao thấp (thường nhỏ hơn 5, thường là nhỏ hơn 3) để thăm dò hoặc tạo mồi cho thư viện. Nói chung, mẫu dò hoặc đoạn mồi chứa ít nhất 14, 16 hoặc 30 nucleotit liền kề của trình tự bổ sung hoặc giống hệt với gen quan tâm. Đầu dò và đoạn mồi có thể dài 10, 20, 30, 50, 100 hoặc nhiều nucleotit.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "phân tử axit nucleic được phân lập" là phân tử được tách ra khỏi các phân tử axit nucleic khác có trong nguồn tự nhiên của phân tử axit nucleic. Phân tử axit nucleic "được phân lập", như phân tử cADN, về cơ bản có thể không chứa vật liệu tế bào khác hoặc môi trường nuôi cấy khi được sản xuất bằng kỹ thuật tái tổ hợp, hoặc về cơ bản không chứa tiền chất hóa học hoặc các hóa chất khác khi được tổng hợp hóa học. Phân tử axit nucleic phân lập làm ví dụ được đề xuất

trong bản mô tả này bao gồm phân tử axit nucleic phân lập mã hóa proteaza u-PA được đề xuất.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "tổng hợp," tham chiếu đến, ví dụ, phân tử axit nucleic tổng hợp hoặc gen tổng hợp hoặc peptit tổng hợp dùng để chỉ phân tử axit nucleic hoặc phân tử polypeptit mà được sản xuất bằng phương pháp tái tổ hợp và/hoặc bằng phương pháp tổng hợp hóa học.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "polypeptit" dùng để chỉ hai hoặc nhiều axit amin cộng hóa trị gia nhập. Thuật ngữ "polypeptit" và "protein" được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "peptit" dùng để chỉ polypeptit mà dài khoảng từ 2 đến 40 axit amin.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, axit amin mà xuất hiện ở các trình tự axit amin khác nhau được đề xuất trong bản mô tả này được xác định theo cách viết tắt ba chữ cái hoặc một chữ cái đã biết của chúng (Bảng 2). Nucleotit xuất hiện trong các mảnh axit nucleic khác nhau được ký hiệu bằng các ký hiệu đơn chữ cái tiêu chuẩn được sử dụng thường xuyên trong lĩnh vực này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "axit amin" là hợp chất hữu cơ chứa nhóm amino và nhóm axit carboxylic. Polypeptit chứa hai hoặc nhiều axit amin. Đối với mục đích trong bản mô tả này, axit amin bao gồm 20 axit amin có trong tự nhiên (bảng 2), axit amin không có trong tự nhiên và tương tự axit amin (tức là axit amin trong đó α-cacbon có một chuỗi bên). Như được sử dụng trong bản mô tả này, các axit amin, xuất hiện trong các trình tự axit amin khác nhau của polypeptit xuất hiện trong bản mô tả này, được xác định theo cách viết tắt nổi tiếng, gồm ba chữ cái hoặc một chữ cái (xem Bảng 2). Các nucleotide, xuất hiện trong các phân tử và đoạn axit nucleic khác nhau, được ký hiệu bằng các ký hiệu đơn chữ cái tiêu chuẩn được sử dụng thường xuyên trong lĩnh vực này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "gốc axit amin" dùng để chỉ axit amin được tạo ra khi phân giải bằng thủy phân hóa học (thủy phân) polypeptit tại liên kết peptit của nó. Gốc axit amin được mô tả trong bản mô tả này được cho là ở dạng đồng phân "L". Gốc ở dạng đồng phân "D", được chỉ định như vậy, có thể được thế cho gốc axit amin L bất kỳ miễn là polypeptit vẫn giữ được tính chất chức năng mong muốn.

NH_2 dùng để chỉ nhóm amin tự do có ở đầu tận amin của polypeptit. COOH dùng để chỉ nhóm carboxy tự do có ở đầu tận carboxyl của polypeptit. Để phù hợp với danh pháp polypeptit tiêu chuẩn được mô tả trong *J. Biol. Chem.*, 243: 3557-3559 (1968), và được thông qua vào 37 C.F.R. §§ 1.821-1.822, chữ viết tắt của gốc axit amin được thể hiện trong bảng 2:

Bảng 2 – Bảng tương đồng

Ký hiệu		
1 chữ cái	3 chữ cái	Axit amin
Y	Tyr	Tyrosin
G	Gly	Glyxin
F	Phe	Phenylalanin
M	Met	Methionin
A	Ala	Alanin
S	Ser	Serin
I	Ile	Isoleuxin
L	Leu	Leuxin
T	Thr	Threonin
V	Val	Valin
P	Pro	Prolin
K	Lys	Lysin
H	His	Histidin
Q	Gln	Glutamin
E	Glu	Axit glutamic
Z	Glx	Glu và/hoặc Gln
W	Trp	Tryptophan
R	Arg	Arginin
D	Asp	Axit aspartic

Ký hiệu		
1 chữ cái	3 chữ cái	Axit amin
N	Asn	Asparagin
B	Asx	Asn và/hoặc Asp
C	Cys	Xystein
X	Xaa	Không xác định hoặc khác

Tất cả các trình tự của gốc axit amin được biểu diễn trong bản mô tả này bằng công thức có hướng từ trái sang phải theo hướng quy ước của đầu tận amino đến đầu tận carboxyl. Cụm từ "gốc axit amin" bao gồm các axit amin được liệt kê trong Bảng tương ứng (Bảng 2), các axit amin đã biến đổi, không tự nhiên và bất thường. Hơn nữa, dấu gạch ngang ở đầu hoặc cuối trình tự gốc axit amin cho biết liên kết peptit với trình tự tiếp theo của một hoặc nhiều gốc axit amin hoặc với nhóm đầu tận amin như NH_2 hoặc với nhóm đầu tận cacboxyl như COOH.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "axit amin có trong tự nhiên" dùng để chỉ 20 L-axit amin mà xảy ra ở polypeptit. Như được sử dụng trong bản mô tả này, gốc của α-axit amin tự nhiên là gốc của 20 α-axit amin được tìm thấy trong tự nhiên mà được kết hợp vào protein bằng việc nhận biết cụ thể phân tử tARN tích điện với codon mARN cùng nguồn gốc của nó ở người.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "axit amin không tự nhiên" dùng để chỉ hợp chất hữu cơ có cấu trúc tương tự với axit amin tự nhiên nhưng được biến đổi cấu trúc để bắt chước cấu trúc và khả năng phản ứng của axit amin tự nhiên. Do đó, axit amin không có trong tự nhiên bao gồm, ví dụ, axit amin hoặc chất tương tự của axit amin khác ngoài 20 axit amin có trong tự nhiên và bao gồm, nhưng không giới hạn ở, đồng phân lập thể D của axit amin. Axit amin không tự nhiên làm ví dụ được biết đến với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, và bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, para-axetyl phenylalanin, para-azido phenylalanin, axit 2-aminoadipic (Aad), axit 3-aminoadipic (bAad), axit β-alanin/β -amino-propionic (Bala), axit 2-aminobutyric (Abu), axit 4-aminobutyric/axit piperidinic (4Abu), axit 6-aminocaproic (Acp), axit 2-aminoheptanoic (Ahe), axit 2-aminoisobutyric (Aib), axit 3-aminoisobutyric (Baib), axit 2-aminopimelic (Apm), axit 2,4-diaminobutyric (Dbu),

desmosine (Des), axit 2,2'-diaminopimelic (Dpm), axit 2,3-diaminopropionic (Dpr), N-etylglyxin (EtGly), N-etylasparagin (EtAsn), hydroxylysin (Hyl), allo-hydroxylysin (Ahyl), 3-hydroxyprolin (3Hyp), 4-hydroxyprolin (4Hyp), isodesmosin (Ide), allo-isoleuxin (Aile), N-metylglyxin, sarcosin (MeGly), N-metylisoleuxin (MeIle), 6-N-metyllysin (MeLys), N-metylvalin (MeVal), norvalin (Nva), norleuxin (Nle), và ornithin (Orn). Axit amin không tự nhiên làm ví dụ được mô tả trong bản mô tả này và được biết đến với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, hỗn hợp đẳng động là hỗn hợp trong đó tỷ lệ mol của các axit amin đã được điều chỉnh dựa trên tốc độ phản ứng được báo cáo của chúng (xem, Ostresh *et al.* (1994) *Biopolymers* 34:1681).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, cấu trúc ADN là phân tử ADN mạch đơn hoặc kép, thẳng hoặc vòng chứa các đoạn ADN được kết hợp và gắn liền với nhau theo cách không có trong tự nhiên. Cấu trúc ADN tồn tại do sự thao túng của con người, và bao gồm các bản sao và các bản sao khác của sự thao túng phân tử.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, mảnh ADN là một phần của phân tử ADN lớn hơn có các thuộc tính cụ thể. Ví dụ, mảnh ADN mã hóa polypeptit cụ thể là một phần của phân tử ADN dài hơn, như đoạn plasmid hoặc plasmid, khi đọc từ hướng 5 'đến 3', sẽ mã hóa trình tự axit amin của polypeptit cụ thể.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ ortholog có nghĩa là polypeptit hoặc protein thu được từ một loài là đối chứng chức năng của polypeptit hoặc protein từ loài khác. Sự khác biệt về trình tự giữa các ortholog là kết quả của việc xác định.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ polynucleotit có nghĩa là polyme mạch đơn hoặc mạch kép của deoxyribonucleotit hoặc bazơ ribonucleotit được đọc từ đầu 5' đến đầu 3'. Polynucleotit bao gồm ARN và ADN, và có thể được phân lập từ nguồn tự nhiên, được tổng hợp *in vitro*, hoặc được điều chế từ hỗn hợp của phân tử tự nhiên và tổng hợp. Chiều dài của phân tử polynucleotit được nêu trong bản mô tả này dưới dạng nucleotit (viết tắt là "nt") hoặc cặp bazơ (viết tắt là "bp"). Thuật ngữ nucleotit được sử dụng cho phân tử sợi đơn và sợi kép lúc ngữ cảnh cho phép. Khi thuật ngữ được áp dụng cho phân tử sợi kép, nó được sử dụng để biểu thị chiều dài tổng thể và được hiểu là tương đương với thuật ngữ cặp bazơ. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu rằng hai sợi của polynucleotit sợi kép có thể dài khác nhau một

chút và đầu của chúng có thể so le nhau; do đó tất cả các nucleotit trong phân tử polynucleotit mạch kép không thể bắt cặp với nhau. Đầu không được bắt cặp này thường không dài quá 20 nucleotit.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, sự sắp thẳng hàng của trình tự dùng để chỉ việc sử dụng tương đồng để sắp xếp hai hoặc nhiều trình tự nucleotit hoặc axit amin. Thông thường, hai hoặc nhiều chuỗi có liên quan đến 50% danh tính trở lên được căn chỉnh. Một tập hợp trình tự được căn chỉnh đề cập đến 2 hoặc nhiều trình tự được căn chỉnh ở các vị trí tương ứng và có thể bao gồm các trình tự sắp xếp có nguồn gốc từ ARN, như EST và các cADN khác, được căn chỉnh với trình tự ADN bộ gen. Các polypeptit có liên quan hoặc biến thể hoặc các phân tử axit nucleic có thể được căn chỉnh bằng bất kỳ phương pháp nào mà những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết. Các phương pháp như vậy thường tối multime hóa các kết quả phù hợp và bao gồm các phương pháp, như sử dụng căn chỉnh thủ công và bằng cách sử dụng nhiều chương trình căn chỉnh có sẵn (ví dụ, BLASTP) và các chương trình khác, được biết đến với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Bằng cách sắp xếp các trình tự của polypeptit hoặc axit nucleic, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể xác định các phần hoặc vị trí tương tự, sử dụng gốc axit amin được bảo toàn và giống hệt nhau làm hướng dẫn. Hơn nữa, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cũng có thể sử dụng các gốc axit amin hoặc nucleotit được bảo toàn làm hướng dẫn để tìm các gốc axit amin hoặc nucleotit tương ứng giữa và giữa các trình tự của người và không phải của người. Các vị trí tương ứng cũng có thể dựa trên sự liên kết cấu trúc, ví dụ bằng cách sử dụng sự liên kết mô phỏng bằng máy tính của cấu trúc protein. Trong các trường hợp khác, các vùng tương ứng có thể được xác định. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cũng có thể sử dụng gốc axit amin bảo toàn làm hướng dẫn để tìm gốc axit amin tương ứng giữa và trong số các trình tự của người và không phải của người.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "độ tương đồng trình tự" dùng để chỉ số axit amin hoặc bazơ nucleotit giống hoặc tương tự khi so sánh giữa polypeptit hoặc polynucleotit thử nghiệm và đối chứng. Độ tương đồng trình tự có thể được xác định bằng cách căn chỉnh trình tự của axit nucleic hoặc trình tự protein để xác định vùng tương tự hoặc tương đồng. Đối với mục đích trong bản mô tả này, độ tương đồng trình tự thường được xác định bằng cách căn chỉnh để xác định gốc tương đồng. Sự căn chỉnh

có thể là cục bộ hoặc toàn bộ. Điểm trùng khớp, không khớp và khoảng trống có thể được xác định giữa các trình tự được so sánh. Khoảng trống là axit amin rỗng hoặc nucleotit được chèn vào giữa các gốc của trình tự được căn chỉnh sao cho ký tự giống nhau hoặc tương tự được căn chỉnh. Nói chung, có thể có khoảng trống bên trong và đầu tận. Độ tương đồng trình tự có thể được xác định bằng cách tính đến khoảng trống như số gốc/độ dài tương đồng của trình tự ngắn nhất x 100. Khi sử dụng hình phạt khoảng cách, độ tương đồng trình tự có thể được xác định mà không bị phạt cho khoảng trống cuối (ví dụ, khoảng trống đầu tận không bị phạt). Ngoài ra, độ tương đồng trình tự có thể được xác định mà không tính đến khoảng trống là số vị trí/chiều dài tương đồng của tổng số trình tự được căn chỉnh x 100.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "ở vị trí tương ứng với", hoặc mô tả rằng vị trí nucleotit hoặc axit amin "tương ứng với" nucleotit hoặc vị trí axit amin trong trình tự được bộc lộ, như được nêu ở phần danh mục trình tự, dùng để chỉ nucleotit hoặc vị trí axit amin được xác định khi căn chỉnh với trình tự được bộc lộ để tối multime hóa độ tương đồng bằng cách sử dụng thuật toán căn chỉnh tiêu chuẩn, như thuật toán GAP. Đối với mục đích trong bản mô tả này, sự căn chỉnh của trình tự u-PA là với trình tự axit amin của miền proteaza của u-PA của người được nêu trong SEQ ID NO: 2 hoặc 5, cụ thể là u-PA của người tham chiếu của SEQ ID NO:5. Bằng cách căn chỉnh trình tự, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể xác định gốc tương ứng, ví dụ, sử dụng gốc axit amin được bảo toàn và tương đồng làm hướng dẫn. Nói chung, để xác định vị trí tương ứng, trình tự của axit amin được căn chỉnh sao cho khớp với thứ tự cao nhất thu được (xem, ví dụ, *Computational Molecular Biology*, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; *Computer Analysis of Sequence Data, Part I*, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press, 1987; and *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; and Carillo *et al.* (1988) *SIAM J Applied Math* 48:1073). Ngoài ra, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể đánh số gốc bằng số chymotrypsin, từ đó xác định các gốc tương ứng. Đối với trình tự có liên quan chặt chẽ, thuật toán máy tính không cần thiết; căn chỉnh có thể được thực hiện trực quan.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "căn chỉnh toàn bộ" là căn chỉnh mà căn chỉnh hai trình tự từ đầu đến cuối, căn chỉnh mỗi chữ cái trong mỗi trình tự chỉ một lần. Sự căn chỉnh được tạo ra, bất kể có hay không sự tương tự hoặc tương đồng giữa các trình tự. Ví dụ, 50% độ tương đồng trình tự dựa trên "căn chỉnh toàn bộ" có nghĩa là trong căn chỉnh của trình tự đầy đủ của hai trình tự được so sánh, mỗi trình tự dài 100 nucleotit, 50% gốc giống nhau. Điều này được hiểu rằng căn chỉnh toàn bộ cũng có thể được sử dụng để xác định độ tương đồng trình tự ngay cả khi độ dài của trình tự được căn chỉnh không giống nhau. Sự khác biệt về đầu tận của chuỗi được tính đến khi xác định độ tương đồng chuỗi, trừ khi "không có hình phạt cho khoảng trống cuối" được chọn. Nói chung, sự căn chỉnh toàn bộ được sử dụng trên trình tự có sự tương tự đáng kể trên hầu hết chiều dài của chúng. Thuật toán làm ví dụ để thực hiện căn chỉnh toàn bộ bao gồm thuật toán Needleman-Wunsch (Needleman *et al.* (1970) *J. Mol. Biol.* 48: 443). Chương trình làm ví dụ để thực hiện căn chỉnh toàn bộ được công bố rộng rãi và bao gồm công cụ căn chỉnh trình tự toàn bộ có sẵn tại trang web của Trung tâm Thông tin Công nghệ Sinh học Quốc gia (NCBI) (ncbi.nlm.nih.gov/) và chương trình có sẵn tại deepc2.psi.iastate.edu/aat/align/align.html.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "căn chỉnh cục bộ" là căn chỉnh giúp sắp xếp hai trình tự, nhưng chỉ căn chỉnh các phần của trình tự có chung điểm giống nhau hoặc tương đồng. Do đó, liên kết cục bộ xác định xem các phân đoạn con của một trình tự có xuất hiện trong trình tự khác hay không. Nếu không có sự tương đồng, không có sự liên kết nào được trả về. Các thuật toán căn chỉnh cục bộ bao gồm BLAST và thuật toán Smith-Waterman (*Adv. Appl. Math.* 2: 482 (1981)). Ví dụ:50% nhận dạng trình tự dựa trên "sự liên kết cục bộ" có nghĩa là trong sự liên kết của trình tự đầy đủ của hai trình tự được so sánh có độ dài bất kỳ, một vùng tương đồng hoặc nhận dạng của 100 nucleotit về chiều dài có 50% gốc giống nhau trong khu vực tương tự hoặc tương đồng.

Đối với mục đích trong bản mô tả này, độ tương đồng trình tự có thể được xác định bằng chương trình thuật toán căn chỉnh tiêu chuẩn được sử dụng với hình phạt khoảng cách mặc định do mỗi nhà cung cấp thiết lập. Tham số mặc định cho chương trình GAP có thể bao gồm: (1) ma trận so sánh một bậc (chứa giá trị 1 cho độ tương đồng và 0 cho không tương đồng) và ma trận so sánh có trọng số của Gribskov *et al.* (1986) *Nucl. Axit Res.* 14: 6745, theo mô tả của Schwartz và Dayhoff, eds., *Atlas of Protein Sequence and Structure*, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-

358 (1979); (2) hình phạt là 3,0 cho mỗi khoảng cách và hình phạt bổ sung 0,10 cho mỗi ký hiệu trong mỗi khoảng cách; và (3) không bị phạt cho khoảng trống cuối. Cho dù hai phân tử axit nucleic bất kỳ có trình tự nucleotit hoặc bất kỳ hai polypeptit nào có trình tự axit amin ít nhất là 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% "tương đồng" hoặc các biến thể tương tự khác mô tả phần trăm độ tương đồng, có thể được xác định bằng cách sử dụng thuật toán máy tính đã biết dựa trên căn chỉnh cục bộ hoặc toàn bộ (xem, ví dụ, wikipedia.org/wiki/Sequence_alignment_software, cung cấp liên kết đến hàng chục cơ sở dữ liệu và chương trình căn chỉnh đã biết và công bố). Nói chung, đối với mục đích trong bản mô tả này, độ tương đồng trình tự được xác định bằng cách sử dụng thuật toán máy tính dựa trên căn chỉnh toàn bộ, như công cụ căn chỉnh trình tự toàn bộ Needleman-Wunsch có sẵn từ NCBI/BLAST (blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?CMD=Web&Page_TYPE = BlastHome); LAlign (William Pearson thực hiện thuật toán Huang và Miller (*Adv. Appl. Math.* (1991) 12: 337-357)); và chương trình của Xiaoqui Huang có sẵn tại deepc2.psi.iastate.edu/aat/align/align.html. Nói chung, khi so sánh trình tự nucleotit trong bản mô tả này, việc căn chỉnh với hình phạt cho khoảng trống cuối được sử dụng. Căn chỉnh cục bộ cũng có thể được sử dụng khi trình tự được so sánh về cơ bản là cùng độ dài.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "độ tương đồng" đại diện cho sự so sánh hoặc căn chỉnh giữa polypeptit hoặc polynucleotit thử nghiệm và đối chứng. Trong một ví dụ không giới hạn, "ít nhất 90% tương đồng với" dùng để chỉ phần trăm độ tương đồng từ 90% đến 100% so với polypeptit hoặc polynucleotit đối chứng. Độ tương đồng ở mức 90% hoặc cao hơn cho thấy thực tế là, giả sử cho mục đích lấy mẫu, độ dài polypeptit hoặc polynucleotit thử nghiệm và đối chứng của 100 axit amin hoặc nucleotit được so sánh, không nhiều hơn 10% (tức là 10 trên 100) của axit amin hoặc nucleotit trong polypeptit thử nghiệm hoặc polynucleotit khác với polypeptit đối chứng. Có thể so sánh tương tự giữa các polynucleotit thử nghiệm và tham chiếu. Sự khác biệt này có thể được biểu thị dưới dạng đột biến điểm phân bố ngẫu nhiên trên toàn bộ chiều dài của trình tự axit amin hoặc chúng có thể được tập hợp lại ở một hoặc nhiều vị trí có chiều dài thay đổi đến mức tối đa cho phép, ví dụ, chênh lệch axit amin 10/100 (độ tương đồng khoảng 90%). Sự khác biệt cũng có thể là do sự cắt bỏ hoặc cắt ngắn gốc axit amin. Sự khác biệt được định nghĩa là sự thay thế, chèn hoặc xóa axit nucleic hoặc axit amin.

Tùy thuộc vào độ dài của trình tự được so sánh, ở mức độ tương đồng hoặc đồng nhất trên khoảng 85-90%, kết quả có thể độc lập với thiết lập chương trình và tham số khoảng cách; mức độ tương đồng cao này có thể được đánh giá dễ dàng, thường không cần dựa vào phần mềm.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, liên kết disulfua (còn được gọi là liên kết S-S hoặc cầu nối disulfua) là liên kết cộng hóa trị đơn có nguồn gốc từ sự liên kết của các nhóm thiol. Liên kết disulfua trong protein được tạo thành giữa các nhóm thiol của gốc xystein, và ổn định các tương tác giữa các miền polypeptit.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "ghép đôi" hoặc "liên hợp" có nghĩa là được gắn vào thông qua tương tác cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị. Thể liên hợp được đề xuất trong bản mô tả này, chứa miền proteaza polypeptit u-PA đã được sửa đổi (được gọi là “SPD”, ví dụ, xem Fig. 4), và tất cả hoặc một phần của polypeptit u-PA còn lại, được liên kết trực tiếp hoặc trong lọ là gen liên kết với một trình tự liên kết khác gốc, như polypeptit mang lại một đặc tính, như tăng thời gian bán hủy trong huyết thanh (tức là, HSA albumin huyết thanh người), hoặc tạo điều kiện cho sự biểu hiện hoặc tinh sạch (tức là, SUMO, his-SUMO, TSG-6), hoặc nhắm đích protein tới thụ thể, như kháng gen liên kết với thụ thể. Polypeptit có thể được liên kết trực tiếp hoặc thông qua gen liên kết polypeptit, nói chung là một đoạn ngắn, khoảng 4-20, axit amin, như sự kết hợp của gốc Ser và Gly. Các liên hợp chứa polypeptit thường là các protein dung hợp. Các chất liên hợp cũng bao gồm các polypeptit u-PA được sửa đổi trong đó các gốc axit amin được liên kết với các phần tử, như các phần tử PEG, các phần tử glycosyl hóa và các gốc khác.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, “đoạn mồi” dùng để chỉ phân tử axit nucleic có thể hoạt động như điểm bắt đầu quá trình tổng hợp ADN theo hướng khuôn mẫu trong điều kiện thích hợp (ví dụ, khi có mặt bốn nucleosit triphosphat khác nhau và chất polyme hóa, như ADN polymeraza, ARN polymeraza hoặc enzym phiên mã ngược) trong dung dịch đệm thích hợp và ở nhiệt độ thích hợp. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu rằng một số phân tử axit nucleic nhất định có thể đóng vai trò là “đoạn dò” và “đoạn mồi”. Tuy nhiên, đoạn mồi có nhóm hydroxyl 3’ để mở rộng. Đoạn mồi có thể được sử dụng theo nhiều phương pháp, bao gồm, ví dụ, phản ứng chuỗi polymeraza (PCR), enzym phiên mã ngược (RT)-PCR, ARN PCR, LCR, PCR đa

mồi, PCR panhandle, PCR bắt, PCR biểu hiện, RACE 3' và 5', PCR tại chỗ, PCR qua trung gian phối tử và các giao thức khuếch đại khác.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "đoạn mồi" dùng để chỉ oligonucleotit chứa hai hoặc nhiều deoxyribonucleotit hoặc ribonucleotit, thường là hơn ba, từ đó có thể bắt đầu tổng hợp sản phẩm mở rộng mồi. Các điều kiện thực nghiệm có lợi cho quá trình tổng hợp bao gồm sự hiện diện của nucleosit triphosphat và chất để trùng hợp và kéo dài, như ADN polymeraza, và một chất đệm thích hợp, nhiệt độ và độ pH.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "cặp đoạn mồi" dùng để chỉ bộ đoạn mồi bao gồm đoạn mồi 5' (ngược dòng) lai với đầu 5' của trình tự sẽ được khuếch đại (ví dụ bằng PCR) và mồi 3' (xuôi dòng) lai với phần bổ sung của 3' cuối của trình tự được khuếch đại.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "lai đặc biệt" dùng để chỉ quá trình ủ, bằng cách bắt cặp bazơ bổ sung, của phân tử axit nucleic (ví dụ oligonucleotit) với phân tử axit nucleic đích. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã quen thuộc với các thông số in vitro và in vivo ảnh hưởng đến quá trình lai hóa cụ thể, như chiều dài và thành phần của phân tử cụ thể. Các thông số đặc biệt liên quan đến lai in vitro bao gồm nhiệt độ ủ và rửa, thành phần đệm và nồng độ muối. Điều kiện rửa ví dụ để loại bỏ các phân tử axit nucleic không liên kết đặc biệt ở mức độ nghiêm ngặt cao là 0,1 x SSPE, 0,1% SDS, 65°C và ở mức nghiêm ngặt trung bình là 0,2 x SSPE, 0,1% SDS, 50°C. Điều kiện nghiêm ngặt tương đương được biết đến trong lĩnh vực này. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể dễ dàng điều chỉnh các thông số này để đạt được sự lai hóa cụ thể của phân tử axit nucleic với phân tử axit nucleic đích thích hợp cho một ứng dụng cụ thể.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, về cơ bản là giống với sản phẩm có nghĩa là đủ tương tự sao cho tính chất quan tâm đủ không được thay đổi sao cho sản phẩm về cơ bản giống hệt nhau có thể được sử dụng thay cho sản phẩm.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, cũng được hiểu rằng thuật ngữ "về cơ bản là giống" hoặc "tương tự" thay đổi theo ngữ cảnh như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, dạng kiểu dại của polypeptit hoặc phân tử axit nucleic là dạng được mã hóa bằng gen hoặc bằng trình tự mã hóa được mã hóa

bằng gen. Thông thường, dạng kiểu dại của gen, hoặc phân tử được mã hóa từ đó, không chứa đột biến hoặc các biến đổi khác mà thay đổi chức năng hoặc cấu trúc. Thuật ngữ kiểu dại cũng bao gồm dạng có sự thay đổi alen như xảy ra giữa và trong số các loài. Như được sử dụng trong bản mô tả này, dạng chủ yếu của phân tử polypeptit hoặc axit nucleic dùng để chỉ dạng phân tử là dạng chính được tạo ra từ gen. "Dạng chiếm ưu thế" khác nhau giữa các nguồn. Ví dụ, các tế bào hoặc loại mô khác nhau có thể sản xuất các dạng polypeptit khác nhau, ví dụ, bằng cách nối thay thế và/hoặc bằng cách xử lý protein thay thế. Trong mỗi loại tế bào hoặc mô, polypeptit khác nhau có thể là "dạng chiếm ưu thế".

Như được sử dụng trong bản mô tả này, biến thể alen hoặc dạng biến thể alen tham chiếu đến bất kỳ dạng nào trong số hai hoặc nhiều dạng thay thế của gen chiếm cùng vị trí nhiễm sắc thể. Biến dị alen phát sinh tự nhiên thông qua đột biến, và có thể dẫn đến đa hình kiểu hình trong quần thể. Đột biến gen có thể im lặng (không thay đổi polypeptit được mã hóa) hoặc có thể mã hóa polypeptit có trình tự axit amin bị thay đổi. Thuật ngữ "biến thể alen" cũng được sử dụng trong bản mô tả này để biểu thị một protein được mã hóa bởi một biến thể alen của gen. Thông thường, dạng tham chiếu của gen mã hóa dạng kiểu dại và/hoặc dạng polypeptit chiếm ưu thế từ một quần thể hoặc thành viên tham chiếu đơn lẻ của loài. Thông thường, các biến thể alen, bao gồm các biến thể giữa và giữa các loài, có ít nhất 80%, 90% hoặc cao hơn nhận dạng axit amin với dạng hoang dã và/hoặc dạng trội của cùng một loài; mức độ nhận dạng phụ thuộc vào gen và việc so sánh là giữa các loài hay nội loài. Nói chung, các biến thể alen trong loài có ít nhất hoặc ít nhất khoảng 80%, 85%, 90% hoặc 95% hoặc hơn với kiểu dại và/hoặc dạng ưu thế, bao gồm ít nhất hoặc ít nhất khoảng 96%, 97%, 98 %, 99% hoặc nhận dạng lớn hơn với dạng hoang dã và/hoặc dạng chiếm ưu thế của polypeptit.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "alen," được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này với "biến thể alen" dùng để chỉ dạng thay thế của gen hoặc các phần của chúng. Các alen chiếm cùng một vị trí hoặc một vị trí trên các nhiễm sắc thể tương đồng. Khi một đối tượng có hai alen giống nhau của một gen, đối tượng được cho là đồng hợp tử về gen hoặc alen đó. Khi một đối tượng có hai alen khác nhau của một gen, đối tượng được cho là dị hợp tử về gen đó. Các alen của một gen cụ thể có thể khác nhau ở một nucleotit đơn hoặc một số nucleotide, và có thể bao gồm thay thế, xóa bỏ và chèn thêm nucleotit. Một alen của một gen cũng có thể là một dạng của gen chứa đột biến.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, biến thể loài dùng để chỉ biến thể ở polypeptit trong các loài khác nhau, bao gồm các loài động vật có vú khác nhau, như chuột và người. Thông thường, biến thể loài có độ tương đồng trình tự khoảng hoặc 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% hoặc nhiều hơn. Gốc tương ứng giữa và trong số các biến thể loài có thể được xác định bằng cách so sánh và căn chỉnh trình tự để tối multime hóa số nucleotit hoặc gốc phù hợp, ví dụ, sao cho độ tương đồng giữa các trình tự bằng hoặc lớn hơn 95%, bằng hoặc lớn hơn 96%, bằng hoặc lớn hơn 97%, bằng hoặc lớn hơn 98% hoặc bằng hoặc lớn hơn 99%. Vị trí quan tâm sau đó được cho số được căn chỉnh trong phân tử axit nucleic tham chiếu. Căn chỉnh có thể được thực hiện theo cách thủ công hoặc bằng mắt, cụ thể là, khi độ tương đồng trình tự lớn hơn 80%.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, biến thể mối nối dùng để chỉ biến thể được tạo ra bằng quá trình xử lý khác biệt đối với bản phiên mã chính của ADN bộ gen dẫn đến kết quả là nhiều hơn một loại mARN.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, biến đổi dùng để chỉ biến đổi của trình tự sơ cấp của axit amin của polypeptit hoặc trình tự của nucleotit trong phân tử axit nucleic và bao gồm các đoạn mất đoạn, chèn thêm và thay thế các axit amin và nucleotit tương ứng. Điều này trái ngược với các sửa đổi của chính polypeptit, bao gồm các biến đổi sau dịch mã, như glycosyl hóa, farnysyl hóa, pegyl hóa và dung hợp, như dung hợp với polypeptit khác để thay đổi đặc tính, như thời gian bán hủy trong huyết thanh, như bằng cách tạo albumin, dung hợp với albumin, như albumin huyết thanh người, và các dạng biến đổi khác như vậy đối với polypeptit. Do đó, đề cập đến các sửa đổi của trình tự axit amin là đề cập đến sự chèn thêm, loại bỏ, sự thay thế/thay thế và sự kết hợp của chúng. Sự sửa đổi polypeptit là những sửa đổi được thêm vào polypeptit mà không làm thay đổi trình tự của chúng.

Đối với mục đích trong bản mô tả này, thế, loại bỏ và/hoặc chèn axit amin, có thể được thực hiện với bất kỳ trong số polypeptit u-PA hoặc mảnh có hoạt tính xúc tác của nó miễn là protein thu được biểu hiện hoạt tính proteaza hoặc hoạt tính khác (hoặc, nếu muốn, các thay đổi này có thể được thực hiện để loại bỏ hoạt tính). Biến đổi có thể được thực hiện bằng cách thế axit amin bảo toàn và cũng có thể thế axit amin không bảo toàn. Ví dụ, có thể thực hiện thế axit amin làm thay đổi tính chất của protein một cách mong muốn hoặc có lợi. Theo một phương án, có thể tạo ra đột biến ngăn cản sự phân hủy của

polypeptit. Nhiều proteaza phân cắt sau gốc bazơ, như R và K; để loại bỏ sự phân cắt này, gốc bazơ được thay thế bằng gốc không bazơ. Tương tác của proteaza với chất ức chế có thể bị phong bế trong khi giữ hoạt tính xúc tác bằng cách tạo ra sự thay đổi không bảo toàn tại vị trí tương tác của chất ức chế với proteaza. Các hoạt tính khác cũng có thể được thay đổi. Ví dụ, liên kết thụ thể có thể được thay đổi mà không làm thay đổi hoạt tính xúc tác.

Thế axit amin dự kiến bao gồm thế bảo toàn, như các thế được nêu trong bảng 3, không loại bỏ hoạt tính phân giải protein. Như được mô tả trong bản mô tả này, các thay thế làm thay đổi tính chất của protein, như loại bỏ các vị trí phân cắt và các vị trí khác như vậy cũng được dự tính; những sự thay thế như vậy nói chung là không bảo thủ, nhưng có thể dễ dàng thực hiện bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thế bảo toàn thích hợp của axit amin đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể thường được thực hiện mà không làm thay đổi hoạt tính sinh học của phân tử tạo thành. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này nhận ra rằng, nói chung, sự thay thế axit amin đơn lẻ trong các vùng không thiết yếu của polypeptit không làm thay đổi đáng kể hoạt động sinh học (ví dụ, xem Watson *et al.* Molecular Biology of the Gene, 4th Edition, 1987, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p.224). Những thay thế như vậy có thể được thực hiện phù hợp với những gì được nêu trong Bảng 3 như sau:

Bảng 3

Gốc ban đầu	Thế bảo toàn làm ví dụ
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys
Asn (N)	Gln; His
Cys (C)	Ser
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp
Gly (G)	Ala; Pro

Bảng 3	
Gốc ban đầu	Thế bảo toàn làm ví dụ
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; Gln; Glu
Met (M)	Leu; Tyr; Ile
Phe (F)	Met; Leu; Tyr
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu

Các thế khác cũng được cho phép và có thể được xác định theo kinh nghiệm hoặc theo thế bảo toàn đã biết.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ trình tự khởi động có nghĩa là một phần của gen chứa trình tự ADN cung cấp cho sự liên kết của ARN polymeraza và bắt đầu phiên mã. Trình tự khởi động thường được tìm thấy, nhưng không phải luôn luôn, được tìm thấy trong vùng không mã hóa 5' của gen.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, polypeptit hoặc protein được tinh chế hoặc phân lập hoặc phần có hoạt tính sinh học của chúng về cơ bản không chứa vật chất tế bào hoặc các protein gây ô nhiễm khác từ tế bào mô mà protein có nguồn gốc từ đó, hoặc về cơ bản không chứa tiền chất hóa học hoặc các hóa chất khác khi được tổng hợp hóa học. Chế phẩm có thể được xác định là hoàn toàn không có tạp chất nếu chúng xuất hiện không có tạp chất dễ phát hiện như được xác định bằng phương pháp phân tích tiêu chuẩn, như sắc ký lớp mỏng (TLC), điện di trên gel và sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), được sử dụng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này để đánh giá độ tinh khiết này, hoặc đủ tinh khiết để việc tinh chế thêm sẽ không làm thay đổi đáng kể tính chất vật lý và hóa học, như hoạt tính sinh học và enzym, của chất. Các

phương pháp tinh chế các hợp chất để tạo ra các hợp chất về cơ bản tinh khiết về mặt hóa học được biết đến với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Tuy nhiên, hợp chất về cơ bản tinh khiết về mặt hóa học có thể là hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể. Trong trường hợp này, việc tinh chế thêm có thể làm tăng hoạt tính đặc hiệu của hợp chất.

Thuật ngữ về cơ bản là không chứa vật liệu tế bào bao gồm chế phẩm của protein trong đó protein được tách ra khỏi các thành phần tế bào của tế bào mà từ đó nó được phân lập hoặc tái tổ hợp. Theo một phương án, thuật ngữ về cơ bản không chứa vật liệu tế bào bao gồm các chế phẩm của protein proteaza có ít hơn khoảng 30% (tính theo khối lượng khô) của protein không phải proteaza (còn được gọi là protein gây ô nhiễm trong bản mô tả này), thường ít hơn khoảng 20% của protein không proteaza hoặc 10% protein không phải proteaza hoặc ít hơn khoảng 5% protein không proteaza. Khi protein proteaza hoặc phần hoạt động của chúng được tạo ra tái tổ hợp, nó cũng về cơ bản không có môi trường nuôi cấy, nghĩa là, môi trường nuôi cấy đại diện cho ít hơn, khoảng, hoặc bằng 20%, 10% hoặc 5% thể tích của chế phẩm protein proteaza.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ về cơ bản là không có tiền chất hóa học hoặc các hóa chất khác bao gồm chế phẩm của protein proteaza trong đó protein được tách ra từ tiền chất hóa học hoặc các hóa chất khác tham gia vào quá trình tổng hợp protein. Thuật ngữ này bao gồm các chế phẩm chứa protein proteaza có ít hơn 30% (tính theo khối lượng khô), 20%, 10%, 5% hoặc ít hơn tiền chất hóa học hoặc các hóa chất hoặc thành phần không phải proteaza.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, sản xuất bằng phương pháp tái tổ hợp bằng cách sử dụng các phương pháp ADN tái tổ hợp đề cập đến việc sử dụng các phương pháp nổi tiếng của sinh học phân tử để biểu hiện các protein được mã hóa bằng ADN nhân dòng.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "biểu hiện" dùng để chỉ quy trình mà polypeptit được sản xuất bằng cách sao mã và dịch mã polynucleotit. Mức biểu hiện của polypeptit có thể được đánh giá sử dụng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực, bao gồm, ví dụ, phương pháp xác định lượng polypeptit được sản xuất từ tế bào chủ. Phương pháp này có thể bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, định lượng polypeptit trong tế bào

ly giải bằng ELISA, nhuộm xanh Coomassie sau điện di trên gel, thử nghiệm protein Lowry và thử nghiệm protein Bradford.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "tế bào chủ" là tế bào được sử dụng để nhận, duy trì, tái sản xuất và/hoặc khuếch đại vectơ. Tế bào chủ cũng có thể được sử dụng để biểu hiện polypeptit được mã hóa bởi vectơ. Axit nucleic chứa trong vectơ được sao chép khi tế bào chủ phân chia, do đó khuếch đại axit nucleic.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "vectơ" hoặc "plasmit" là axit nucleic có thể sao chép mà từ đó một hoặc nhiều protein dị hợp có thể được biểu hiện khi vectơ được chuyển thành tế bào chủ thích hợp. Tham chiếu đến một vectơ bao gồm các phần tử rời rạc được sử dụng để đưa axit nucleic khác loại vào tế bào để biểu hiện hoặc sao chép chúng. Tham chiếu đến vectơ cũng bao gồm các vectơ mà axit nucleic mã hóa polypeptit hoặc đoạn của chúng có thể được đưa vào, thường bằng cách cắt và thắt hạn chế. Tham chiếu đến một vectơ cũng bao gồm những vectơ chứa axit nucleic mã hóa một proteaza, như u-PA đã được sửa đổi. Vectơ được sử dụng để đưa axit nucleic mã hóa polypeptit vào tế bào chủ để khuếch đại axit nucleic hoặc để biểu hiện/hiển thị polypeptit được mã hóa bởi axit nucleic. Các vectơ thường vẫn là từng đoạn, nhưng có thể được thiết kế để tạo hiệu ứng tích hợp một gen hoặc một phần của chúng vào một nhiễm sắc thể của bộ gen. Cũng được xem xét là các vectơ là nhiễm sắc thể nhân tạo, như nhiễm sắc thể nhân tạo của nấm men và nhiễm sắc thể nhân tạo của động vật có vú. Việc lựa chọn và sử dụng những chiếc xe như vậy là điều nổi tiếng đối với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Một vectơ cũng bao gồm "vectơ virut" hoặc "vectơ virut". Các vectơ virut là các virut được thiết kế có liên kết hoạt động với các gen ngoại sinh để chuyển (dưới dạng phương tiện hoặc tàu con thoi) các gen ngoại sinh thành tế bào.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "vectơ biểu hiện" bao gồm vectơ có khả năng biểu hiện ADN được liên kết hoạt động với trình tự điều hòa, như vùng khởi động, có khả năng ảnh hưởng đến biểu hiện của mảnh ADN này. Các phân đoạn bổ sung này có thể bao gồm trình tự khởi động và trình tự kết thúc, và tùy ý có thể bao gồm một hoặc nhiều nguồn gốc sao chép, một hoặc nhiều trình tự đánh dấu có thể lựa chọn, trình tự tăng cường, tín hiệu polyadenyl hóa, và tương tự. Vectơ biểu hiện thường có nguồn gốc từ plasmit hoặc ADN của virut, hoặc có thể chứa yếu tố của cả hai. Do đó, vectơ biểu hiện dùng để chỉ cấu trúc ADN hoặc ARN tái tổ hợp, như plasmit, thể thực khuẩn, virut

tái tổ hợp hoặc vectơ khác, khi được đưa vào tế bào chủ thích hợp, dẫn đến biểu hiện của ADN được nhân dòng. Vectơ biểu hiện thích hợp được biết đến bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm vectơ có thể sao chép trong tế bào nhân thực và/hoặc tế bào nhân sơ và vectơ vẫn ở dạng đoạn hoặc vectơ tích hợp vào bộ gen tế bào chủ.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, vectơ cũng bao gồm "vectơ virut" hoặc "vectơ là virut." Vectơ virut là virut được xử lý di truyền mà được liên kết hoạt động với các gen ngoại sinh để chuyển (dưới dạng phương tiện hoặc tàu con thoi) các gen ngoại sinh thành tế bào.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, adenovirut dùng để chỉ nhóm bất kỳ của virut chứa ADN mà làm viêm kết mạc và nhiễm trùng đường hô hấp trên ở người. Như được sử dụng trong bản mô tả này, ADN trần đề cập đến ADN không chứa histon mà có thể được sử dụng cho vắc xin và liệu pháp gen. ADN trần là vật chất di truyền được truyền từ tế bào này sang tế bào khác trong quá trình xử lý quá trình chuyển gen được gọi là chuyển đổi. Trong quá trình biến nạp, ADN tinh khiết hoặc ADN trần được tế bào nhận tiếp nhận, điều này sẽ cung cấp cho tế bào nhận một đặc tính hoặc kiểu hình mới.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "được liên kết chức năng" dùng để chỉ trình tự, vùng, phần tử hoặc vùng axit nucleic có nghĩa là các vùng axit nucleic có liên quan về chức năng với nhau. Ví dụ, axit nucleic mã hóa peptit dẫn đầu có thể được liên kết chức năng với axit nucleic mã hóa polypeptit, nhờ đó các axit nucleic có thể được phiên mã và dịch mã để biểu hiện protein dung hợp chức năng, trong đó peptit dẫn đầu tác động tiết ra polypeptit dung hợp. Trong một số trường hợp, axit nucleic mã hóa polypeptit đầu tiên (ví dụ, peptit dẫn đầu) được liên kết chức năng với axit nucleic mã hóa polypeptit thứ hai và các axit nucleic được phiên mã dưới dạng một bản sao mRNA duy nhất, nhưng quá trình dịch mã phiên mã mRNA có thể dẫn đến một của hai polypeptit đang được biểu hiện. Ví dụ, một codon dừng màu hổ phách có thể nằm giữa axit nucleic mã hóa polypeptit đầu tiên và axit nucleic mã hóa polypeptit thứ hai, sao cho khi được đưa vào tế bào ức chế một phần màu hổ phách, bản sao mRNA đơn thu được có thể được dịch mã để tạo ra một trong hai. protein dung hợp chứa polypeptit thứ nhất và thứ hai, hoặc có thể được dịch mã để chỉ tạo ra polypeptit đầu tiên. Trong một ví dụ khác, trình tự khởi đầu có thể được liên kết chức năng với axit nucleic mã hóa

polypeptit, theo đó trình tự khởi đầu điều chỉnh hoặc làm trung gian cho quá trình phiên mã của axit nucleic.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "trình tự sơ cấp" dùng để chỉ trình tự của gốc axit amin trong polypeptit hoặc trình tự của nucleotit trong phân tử axit nucleic.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, trình tự liên kết protein dùng để chỉ protein hoặc trình tự peptit mà có khả năng liên kết đặc hiệu thường với protein hoặc các trình tự peptit khác, bộ protein hoặc trình tự peptit hoặc protein hoặc trình tự peptit cụ thể.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "thẻ" hoặc "thẻ epitop" dùng để chỉ trình tự axit amin, thường được thêm vào đầu tận N hoặc C của polypeptit, như u-PA được đề xuất trong bản mô tả này. Việc bao gồm các thẻ được dung hợp với một polypeptit có thể tạo điều kiện thuận lợi cho việc phát hiện và/hoặc tinh chế polypeptit. Thông thường, thẻ hoặc polypeptit thẻ đề cập đến polypeptit có đủ gốc để tạo ra epitope được nhận biết bởi kháng thể hoặc có thể phục vụ cho việc phát hiện hoặc tinh chế, nhưng đủ ngắn để nó không cản trở hoạt động của polypeptit mà nó được liên kết. Polypeptit thẻ thường đủ duy nhất để kháng gen liên kết đặc biệt với nó về cơ bản không phản ứng chéo với các epitop trong polypeptit mà nó được liên kết. Các protein được gắn thẻ Epitope có thể được làm sạch ái lực bằng cách sử dụng các kháng thể đặc hiệu cao được nâng lên chống lại các thẻ.

Polypeptit thẻ thích hợp thường có ít nhất 5 hoặc 6 gốc axit amin và thường nằm trong khoảng 8-50 gốc axit amin, thường nằm trong khoảng 9-30 gốc. Thẻ có thể được liên kết với một hoặc nhiều protein và cho phép phát hiện protein hoặc thu hồi nó từ mẫu hoặc hỗn hợp. Những thẻ như vậy nổi tiếng và có thể được tổng hợp và thiết kế một cách dễ dàng. Các polypeptit thẻ ví dụ bao gồm các polypeptit được sử dụng để làm sạch ái lực và bao gồm, các thẻ cải biến giống ubiquitin nhỏ (SUMO), thẻ FLAG, thẻ His, polypeptit thẻ cúm hemagglutinin (HA) và kháng thể của nó 12CA5, (Field *et al.* (1988) *Mol. Cell. Biol.* 8:2159-2165); thẻ c-myc và các kháng thể 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 và 9E10 trong đó (xem, ví dụ, Evan *et al.* (1985) *Molecular and Cellular Biology* 5:3610-3616); và thẻ glycoprotein D (gD) của virus Herpes Simplex và kháng thể của nó (Paborsky *et al.* (1990) *Protein Engineering* 3:547-553). Kháng thể được sử dụng để

phát hiện kháng thể được gắn thẻ epitop thường được gọi trong bản mô tả này là kháng thể thứ cấp.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, trình tự liên kết kim loại dùng để chỉ protein hoặc trình tự peptit có khả năng liên kết cụ thể với ion kim loại nói chung, với tập hợp ion kim loại hoặc với ion kim loại cụ thể.

Như được sử dụng trong bản mô tả này thuật ngữ đánh giá nhằm mục đích bao gồm xác định định lượng và định tính theo nghĩa là thu được giá trị tuyệt đối cho hoạt tính của proteaza, hoặc vùng của chúng, có trong mẫu và cũng để thu được chỉ số, tỷ lệ, tỷ lệ phần trăm, trực quan hoặc các chỉ số giá trị khác. của mức độ của hoạt động. Đánh giá có thể trực tiếp hoặc gián tiếp và các loài hóa học thực sự được phát hiện tất nhiên không cần phải là sản phẩm phân giải protein mà có thể, ví dụ, là một dẫn xuất của chúng hoặc một số chất khác. Ví dụ, phát hiện sản phẩm phân cắt của protein bổ thể, như bằng SDS-PAGE và nhuộm protein bằng màu xanh Coomassie.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, hoạt tính sinh học dùng để chỉ hoạt tính *in vivo* của một hợp chất hoặc các phản ứng sinh lý dẫn đến việc sử dụng *in vivo* một hợp chất, chế phẩm hoặc hỗn hợp khác. Do đó, hoạt tính sinh học bao gồm các tác dụng điều trị và hoạt tính dược phẩm của các hợp chất, chế phẩm và hỗn hợp đó. Các hoạt động sinh học có thể được quan sát trong các hệ thống *in vitro* được thiết kế để thử nghiệm hoặc sử dụng các hoạt động đó. Do đó, đối với các mục đích trong bản mô tả này, hoạt tính sinh học của proteaza là hoạt tính xúc tác của nó, trong đó polypeptit bị thủy phân.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, tương đương, khi đề cập đến hai trình tự của axit nucleic, có nghĩa là hai trình tự quan tâm mã hóa cùng một trình tự axit amin hoặc protein tương đương. Khi tương đương được sử dụng để chỉ hai protein hoặc peptit, điều đó có nghĩa là hai protein hoặc peptit về cơ bản có cùng một trình tự axit amin với chỉ sự thay thế axit amin (như, nhưng không giới hạn ở, những thay đổi thận trọng như những thay đổi được nêu trong Bảng 3, ở trên) về cơ bản không làm thay đổi hoạt động hoặc chức năng của protein hoặc peptit. Khi tương đương đề cập đến một đặc tính, thì đặc tính đó không cần phải có ở cùng một mức độ (ví dụ, hai peptit có thể thể hiện tốc độ khác nhau của cùng một loại hoạt động enzym), nhưng các hoạt động thường giống nhau về cơ bản. Bổ sung, khi đề cập đến hai trình tự nucleotit, có nghĩa là hai trình tự

nucleotit có khả năng lai, điển hình là với ít hơn 25%, 15% hoặc 5% không phù hợp giữa các nucleotit đối lập. Nếu cần, phần trăm bổ sung sẽ được chỉ định. Thông thường, hai phân tử được chọn để chúng sẽ lai trong các điều kiện nghiêm ngặt cao.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, chất biến đổi hoạt tính của protein hoặc biểu hiện của gen hoặc axit nucleic giảm hoặc tăng hoặc làm thay đổi hoạt tính của protein hoặc theo một cách nào đó, điều hòa tăng hoặc giảm hoặc làm thay đổi biểu hiện của axit nucleic trong tế bào.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "protein thể khảm" hoặc "protein dung hợp" dùng để chỉ polypeptit được liên kết hoạt động với polypeptit khác. Protein dung hợp hoặc điện tử được đề xuất trong bản mô tả này có thể bao gồm một hoặc nhiều proteaza hoặc một phần của chúng, như vùng proteaza chuỗi đơn của chúng và một hoặc nhiều polypeptit khác cho bất kỳ một hoặc nhiều tín hiệu điều khiển phiên mã/dịch mã, chuỗi tín hiệu, thẻ để bản địa hóa, thẻ để thanh lọc, một phần của miền của globulin miễn dịch G và/hoặc chất nhắm mục tiêu. Những protein dung hợp hoặc thể khảm này bao gồm những protein được tạo ra bằng phương pháp tái tổ hợp như protein dung hợp, những protein được tạo ra bằng phương pháp hóa học, như bằng cách ghép nối hóa học, ví dụ, liên kết với nhóm sulfhydryl, và những protein được tạo ra bằng bất kỳ phương pháp nào khác nhờ đó ít nhất một proteaza hoặc một phần của nó, được liên kết, trực tiếp hoặc gián tiếp thông qua (các) gen liên kết với polypeptit khác.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, được liên kết hoạt động khi đề cập đến protein dung hợp là polypeptit proteaza và polypeptit không phải proteaza được dung hợp trong khung với nhau. Polypeptit không phải proteaza có thể được dung hợp với đầu cuối N hoặc đầu cuối C của polypeptit proteaza.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, chất nhắm đích là gốc bất kỳ, như protein hoặc phần hữu hiệu của chúng, cung cấp liên kết cụ thể của liên hợp với thụ thể bề mặt tế bào, trong một số trường hợp có thể tạo ra liên hợp được liên kết hoặc các phần của chúng. Chất nhắm đích cũng có thể là chất thúc đẩy hoặc tạo điều kiện, ví dụ, cô lập ái lực hoặc làm sạch liên hợp; sự liên kết của liên hợp vào một bề mặt; hoặc phát hiện liên hợp hoặc phức chứa liên hợp.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "trình tự liên kết" dùng để chỉ trình tự axit amin ngắn nối hai polypeptit (hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit này). "Trình tự

liên kết peptit" dùng để chỉ chuỗi ngắn của axit amin nối hai trình tự polypeptit. Ví dụ về trình tự liên kết polypeptit là trình tự liên kết tham gia hai chuỗi kháng thể trong mảnh kháng thể tổng hợp, như mảnh scFv. Trình tự liên kết được biết đến và trình tự liên kết đã biết bất kỳ có thể được sử dụng trong phương pháp được đề xuất. Ví dụ về trình tự liên kết polypeptit là trình tự axit amin $(Gly\text{-}Ser)_n$, với một số gốc Glu hoặc Lys được phân tán khắp nơi để tăng khả năng hòa tan. Các trình tự liên kết làm ví dụ khác được mô tả trong bản mô tả này; bất kỳ trong số này và các trình tự liên kết đã biết khác có thể được sử dụng với chế phẩm và phương pháp được đề xuất.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, dẫn xuất hoặc chất tương tự của phân tử dùng để chỉ phần có nguồn gốc từ hoặc phiên bản biến đổi của phân tử.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "bệnh hoặc rối loạn" dùng để chỉ tình trạng bệnh lý ở một sinh vật do nguyên nhân hoặc tình trạng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, nhiễm trùng, các tình trạng mắc phải, tình trạng di truyền, các tình trạng liên quan đến tiếp xúc với môi trường và hành vi của con người, và các tình trạng được đặc trưng bởi các triệu chứng có thể nhận biết được. Các bệnh hoặc rối loạn bao gồm bệnh được chẩn đoán lâm sàng cũng như sự gián đoạn trong trạng thái bình thường của sinh vật chưa được chẩn đoán là bệnh lâm sàng. Các bệnh và rối loạn được quan tâm trong bản mô tả này là những bệnh liên quan đến hoạt hóa bổ thể, bao gồm cả những bệnh liên quan đến hoạt hóa bổ thể và những bệnh trong đó hoạt hóa bổ thể đóng một vai trò trong căn nguyên hoặc bệnh lý. Các bệnh và rối loạn được quan tâm trong bản mô tả này bao gồm những bệnh được đặc trưng bởi sự hoạt hóa bổ thể (ví dụ, thoái hóa điểm vàng do tuổi tác và chức năng thận ghép bị trì hoãn).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thoái hóa điểm vàng xảy ra khi phần nhỏ trung tâm của võng mạc, được gọi là điểm vàng, bị thoái hóa. Có hai loại AMD: khô (teo) và ướt (mạch máu mới hoặc xuất tiết). Hầu hết AMD bắt đầu ở dạng khô và ở 10-20% số người, nó tiến triển thành dạng ướt. Thoái hóa điểm vàng do tuổi tác luôn xảy ra ở cả hai mắt (tức là xảy ra ở cả hai mắt), nhưng không nhất thiết tiến triển cùng một tốc độ ở cả hai mắt.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi tác (AMD) là bệnh viêm nhiễm gây suy giảm thị lực và mù lòa ở người lớn tuổi. Các protein của hệ thống bổ thể là trung tâm của sự phát triển của bệnh này. Viêm cục bộ và

toàn thân trong AMD được điều hòa bởi hoạt động phi điều tiết của con đường thay thế của hệ thống bổ thể.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, chức năng ghép bị trì hoãn (DGF) là biểu hiện của chấn thương thận cấp tính (AKI) với thuộc tính duy nhất cho quá trình cấy ghép. Nó xảy ra sau phẫu thuật cấy ghép. Chức năng ghép bị trì hoãn (DGF) là biến chứng phổ biến thường được xác định là cần phải lọc máu trong tuần đầu tiên sau ghép. Tổng hợp nội tại thận của thành phần bổ thể thứ ba C3 (C3) góp phần vào quá trình đào thải cấp tính bằng cách mồi đáp ứng qua trung gian tế bào T. Ví dụ, ở người cho chết não, nồng độ C3 trong thận khu trú cao hơn lúc mua và có liên quan nghịch với chức năng thận 14 ngày sau khi cấy ghép.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, bệnh hoặc rối loạn qua trung gian bổ thể là rối loạn bất kỳ trong đó bất kỳ một hoặc nhiều protein bổ thể đóng vai trò với bệnh, do không có hoặc có mặt protein bổ thể hoặc protein liên quan đến bổ thể hoặc hoạt hóa hoặc làm bất hoạt bổ thể hoặc protein liên quan đến bổ thể. Theo một số phương án, rối loạn qua trung gian bổ thể là do thiếu hụt (các) protein bổ thể. Theo các phương án khác như được mô tả trong bản mô tả này, rối loạn qua trung gian bổ thể là rối loạn do hoạt hóa hoặc hoạt hóa quá mức của (các) protein bổ thể. Rối loạn qua trung gian bổ thể cũng là rối loạn do sự hiện diện của bất kỳ một hoặc nhiều protein bổ thể và/hoặc sự hoạt hóa liên tục của con đường bổ thể.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "rối loạn liên quan đến thoái hóa điểm vàng" dùng để chỉ bất kỳ tình trạng nào trong đó điểm vàng bị thoái hóa hoặc trở nên rối loạn chức năng (ví dụ, do hậu quả của việc giảm sự phát triển của các tế bào của điểm vàng, tăng chết hoặc sắp xếp lại các tế bào của điểm vàng (ví dụ, tế bào RPE), mất chức năng sinh học bình thường hoặc sự kết hợp của những sự kiện này). Thoái hóa điểm vàng dẫn đến mất tính toàn vẹn của kiến trúc mô của tế bào và/hoặc cơ chất ngoại bào của điểm vàng bình thường và/hoặc mất chức năng của các tế bào của điểm vàng. Ví dụ về rối loạn liên quan đến thoái hóa điểm vàng bao gồm thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi (AMD), teo địa lý (GA), loạn dưỡng điểm vàng Bắc Carolina, loạn dưỡng cơ Sorsby, bệnh Stargardt, loạn dưỡng mô hình, bệnh Best, drusen trội và leventinese ác tính (radial drusen). Rối loạn liên quan đến thoái hóa điểm vàng cũng bao gồm những thay đổi ngoài hoàng điểm xảy ra trước hoặc sau rối loạn chức năng và/hoặc thoái hóa điểm vàng. Do đó, thuật ngữ “rối loạn liên quan đến thoái hóa điểm vàng” cũng bao

gồm bất kỳ tình trạng nào làm thay đổi hoặc làm hỏng tính toàn vẹn hoặc chức năng của điểm vàng (ví dụ, tổn thương màng RPE hoặc Bruch). Ví dụ, thuật ngữ này bao gồm bong võng mạc, thoái hóa màng đệm, thoái hóa võng mạc, thoái hóa tế bào cảm thụ ánh sáng, thoái hóa RPE, mucopolysaccharilieu, loạn dưỡng hình nón, loạn dưỡng hình nón và thoái hóa hình nón.

Rối loạn liên quan đến thoái hóa điểm vàng được mô tả trong bản mô tả này bao gồm thoái hóa điểm vàng, ví dụ như thoái hóa điểm vàng AMD. Rối loạn liên quan đến thoái hóa điểm vàng bao gồm rối loạn được điều trị bằng điều trị kháng VEGF, ví dụ như kháng thể kháng VEGF hoặc điều trị bằng laze hoặc kính thiên văn cấy.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "điều trị" đối tượng mắc bệnh hoặc tình trạng bệnh có nghĩa là triệu chứng của đối tượng được giảm bớt một phần hoặc toàn bộ, hoặc vẫn ổn định sau khi điều trị. Do đó, điều trị bao gồm dự phòng, trị liệu và/hoặc chữa bệnh. Dự phòng đề cập đến việc ngăn ngừa một căn bệnh tiềm ẩn và/hoặc ngăn ngừa sự xấu đi của các triệu chứng hoặc sự tiến triển của bệnh. Điều trị cũng bao gồm bất kỳ việc sử dụng dược phẩm nào đối với polypeptit u-PA đã được sửa đổi và các chế phẩm được đề xuất trong bản mô tả này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "ngăn ngừa" hoặc "dự phòng" dùng để chỉ phương pháp trong đó nguy cơ hoặc xác suất phát triển bệnh hoặc tình trạng được giảm.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "chất điều trị", "phác đồ điều trị", "chất bảo vệ phóng xạ" hoặc "liệu pháp hóa học" có nghĩa là thuốc và liệu pháp điều trị bằng thuốc thông thường, bao gồm cả vắc-xin mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết. Các chất xạ trị nổi tiếng trong lĩnh vực kỹ thuật.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "điều trị" có nghĩa là cách bất kỳ trong đó triệu chứng của tình trạng, rối loạn hoặc bệnh tật được cải thiện hoặc thay đổi có lợi. Việc điều trị cũng bao gồm bất kỳ việc sử dụng dược phẩm nào của các chế phẩm trong bản mô tả này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "cải thiện triệu chứng" của bệnh hoặc rối loạn cụ thể bằng cách điều trị, như bằng cách sử dụng một chế phẩm dược phẩm hoặc phương pháp điều trị khác, đề cập đến bất kỳ sự giảm bớt nào, dù là vĩnh viễn hay tạm

thời, kéo dài hay thoáng qua, của các triệu chứng có thể do hoặc liên quan đến việc sử dụng chế phẩm hoặc điều trị.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "chất có hiệu quả dược" bao gồm chất điều trị hoặc chất có hoạt tính sinh học bất kỳ, bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, ví dụ, thuốc gây mê, chất co mạch, chất phân tán và thuốc điều trị thông thường, bao gồm thuốc phân tử nhỏ và protein điều trị.

Như được sử dụng trong bản mô tả này "lượng có hiệu quả" của hợp chất hoặc chế phẩm để điều trị bệnh cụ thể là lượng mà đủ để cải thiện, hoặc theo một cách nào đó làm giảm các triệu chứng liên quan đến bệnh. Lượng thuốc này có thể được sử dụng như một liều duy nhất hoặc có thể được sử dụng theo một phác đồ, nhờ đó nó có hiệu quả. Lượng thuốc này có thể chữa khỏi bệnh nhưng thường được sử dụng để cải thiện các triệu chứng của bệnh. Thông thường, việc sử dụng lặp lại được yêu cầu để đạt được sự cải thiện triệu chứng mong muốn.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "lượng có hiệu quả điều trị" hoặc "liều lượng hiệu quả điều trị" là số lượng của một tác nhân, hợp chất, vật liệu hoặc chế phẩm chứa một hợp chất ít nhất là đủ để tạo ra hiệu quả điều trị sau khi sử dụng cho một đối tượng. Do đó, nó là số lượng cần thiết để ngăn ngừa, chữa khỏi, cải thiện, bắt giữ hoặc ngăn chặn một phần triệu chứng của bệnh hoặc rối loạn.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "có hiệu quả điều trị" có nghĩa là hiệu ứng do điều trị một đối tượng làm thay đổi, điển hình là cải thiện hoặc cải thiện các triệu chứng của bệnh hoặc tình trạng hoặc điều trị khỏi bệnh hoặc tình trạng.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "lượng có hiệu quả phòng bệnh" hoặc "liều có hiệu quả dự phòng" là số lượng của một tác nhân, hợp chất, nguyên liệu hoặc chế phẩm chứa hợp chất mà khi được sử dụng cho một đối tượng, có tác dụng dự phòng dự kiến, ví dụ, ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự khởi phát, hoặc tái phát, của bệnh hoặc các triệu chứng, làm giảm khả năng khởi phát, hoặc tái phát, của bệnh hoặc các triệu chứng, hoặc giảm tỷ lệ nhiễm vi-rút. Tác dụng dự phòng đầy đủ không nhất thiết xảy ra khi dùng một liều, và chỉ có thể xảy ra sau khi dùng một loạt liều. Do đó, một lượng dự phòng có hiệu quả có thể được sử dụng trong một hoặc nhiều lần sử dụng.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "dùng proteaza không bổ thể", như proteaza u-PA biến đổi, dùng để chỉ phương pháp bất kỳ trong đó proteaza không bổ thể

được tiếp xúc với cơ chất của nó. Việc dùng có thể được thực hiện *in vivo* hoặc *ex vivo* hoặc *in vitro*. Ví dụ, đối với việc dùng *ex vivo*, dịch cơ thể, như máu, được lấy ra khỏi đối tượng và tiếp xúc với bên ngoài cơ thể bằng proteaza không bổ thể biến đổi, như proteaza u-PA biến đổi. Đối với việc dùng *in vivo*, proteaza không bổ thể biến đổi, như proteaza u-PA biến đổi, có thể được đưa vào cơ thể, như bằng cách khu trú, tại chỗ, toàn thân và/hoặc đường đưa vào khác. Dùng *in vitro* bao gồm phương pháp, như phương pháp nuôi cấy tế bào.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "dạng liều đơn vị" dùng để chỉ đơn vị vật lý rời rạc phù hợp với các đối tượng con người và động vật và được đóng gói riêng lẻ như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "bệnh nhân" hoặc "đối tượng" được điều trị bao gồm người và động vật không phải người. Động vật có vú bao gồm; động vật linh trưởng, như người, tinh tinh, khỉ đột và khỉ; động vật đã được thuần hóa, như chó, ngựa, mèo, lợn, dê và bò; và các loài gặm nhấm như chuột nhắt, chuột cống, chuột đồng và chuột nhảy.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "hỗn hợp" dùng để chỉ liên kết bất kỳ nào giữa hoặc giữa hai hoặc nhiều mục. Sự liên kết có thể là không gian hoặc đề cập đến việc sử dụng hai hoặc nhiều vật phẩm cho một mục đích chung. Sự kết hợp có thể là hai hoặc nhiều mục riêng biệt, như hai chế phẩm hoặc hai bộ sưu tập, hỗn hợp của chúng, như hỗn hợp đơn lẻ của hai hoặc nhiều mục hoặc bất kỳ biến thể nào của chúng. Các phần tử của một tổ hợp thường được kết hợp hoặc liên quan chức năng.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "chế phẩm" dùng để chỉ hỗn hợp bất kỳ của hai hoặc nhiều sản phẩm hoặc hợp chất (*ví dụ*, chất, chất điều biến, chất điều chỉnh, v.v.). Nó có thể là dung dịch, hỗn dịch, chất lỏng, bột, bột nhão, công thức có nước hoặc không chứa nước hoặc bất kỳ hỗn hợp của chúng.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, chất ổn định dùng để chỉ hợp chất được bổ sung vào chế phẩm để bảo vệ kháng thể hoặc thể liên hợp, như trong điều kiện (ví dụ, nhiệt độ) mà các chế phẩm trong bản mô tả này được bảo quản hoặc sử dụng. Do đó, bao gồm các tác nhân ngăn chặn protein bị phân hủy từ các thành phần khác trong chế phẩm. Ví dụ về các tác nhân đó là axit amin, dẫn xuất axit amin, amin, đường,

polyol, muối và chất đệm, chất hoạt động bề mặt, chất ức chế hoặc cơ chất và các tác nhân khác như được mô tả trong bản mô tả này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "dịch lỏng" dùng để chỉ chế phẩm bất kỳ mà có thể chảy. Dịch lỏng do đó bao gồm chế phẩm ở dạng bán rắn, bột nhão, dung dịch, hỗn hợp nước, gel, nước thơm, kem và các chế phẩm khác.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "vật phẩm sản xuất" là sản phẩm mà được làm và bán. Như được sử dụng trong toàn bộ sáng chế, thuật ngữ được dự định bao gồm chất điều trị có polypeptit u-PA biến đổi hoặc phân tử axit nucleic được chứa trong cùng vật phẩm bao gói hoặc riêng rẽ.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "kit" dùng để chỉ hỗn hợp được bao gói, có thể tùy chọn bao gồm chất phản ứng và các sản phẩm và/hoặc thành phần khác để thực hành các phương pháp sử dụng các phần tử của sự kết hợp. Ví dụ, bộ dụng cụ chứa polypeptit proteaza đã được sửa đổi, như proteaza u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này hoặc phân tử axit nucleic được đề xuất trong bản mô tả này và một mặt hàng khác cho mục đích bao gồm, nhưng không giới hạn, sử dụng, chẩn đoán và đánh giá hoạt tính sinh học hoặc tài sản được cung cấp. Bộ dụng cụ tùy chọn bao gồm hướng dẫn sử dụng.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "chiết xuất tế bào" dùng để chỉ chế phẩm hoặc phân đoạn được tạo ra từ một tế bào bị ly giải hoặc bị phá vỡ.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "động vật" bao gồm động vật bất kỳ, như, nhưng không giới hạn ở; động vật linh trưởng bao gồm người, khỉ đột và khỉ; động vật gặm nhấm, như chuột và chuột cống; gà, như gà; động vật nhai lại, như dê, bò, nai, cừu; lợn, như lợn và các động vật khác. Động vật không phải con người loại trừ con người là động vật được chiêm ngưỡng. Các proteaza được đề xuất trong bản mô tả này là từ bất kỳ nguồn nào, động vật, thực vật, sinh vật nhân sơ và nấm. Hầu hết các proteaza có nguồn gốc từ động vật, bao gồm nguồn gốc từ động vật có vú.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, chế phẩm "liều đơn" dùng để chỉ chế phẩm chứa một liều duy nhất của tác nhân điều trị để sử dụng trực tiếp. Các công thức bào chế đơn thường không chứa bất kỳ chất bảo quản nào.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, chế phẩm đa liều dùng để chỉ chế phẩm mà chứa nhiều liều chất điều trị và có thể được dùng trực tiếp để cung cấp vài liều đơn của chất điều trị. Liều có thể được dùng theo giai đoạn gồm phút, giờ, tuần, ngày hoặc tháng. Chế phẩm đa liều có thể cho phép điều chỉnh liều, gộp liều và/hoặc chia nhỏ liều. Bởi vì các công thức đa liều được sử dụng theo thời gian, chúng thường chứa một hoặc nhiều chất bảo quản để ngăn chặn sự phát triển của vi sinh vật.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "đối chứng" hoặc "tiêu chuẩn" dùng để chỉ mẫu về cơ bản tương đồng với mẫu thử nghiệm, ngoại trừ việc nó không được xử lý bằng thông số thử nghiệm, hoặc nếu là mẫu huyết tương, nó có thể là của tình nguyện viên bình thường không bị ảnh hưởng bởi điều kiện quan tâm. Đối chứng cũng có thể là đối chứng nội bộ. Ví dụ, đối chứng có thể là mẫu, như vi rút, có tính chất hoặc hoạt tính đã biết.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, các dạng số ít bao gồm số nhiều trừ khi ngữ cảnh quy định rõ ràng cách khác. Vì vậy, ví dụ, tham chiếu đến "một" đại lý bao gồm một hoặc nhiều chất.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "hoặc" được sử dụng để chỉ "và/hoặc" trừ khi được chỉ định rõ ràng để chỉ các lựa chọn thay thế hoặc nếu các lựa chọn thay thế loại trừ lẫn nhau.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, khoảng và lượng có thể được biểu hiện dưới dạng "khoảng" giá trị hoặc khoảng cụ thể. Khoảng cũng bao gồm lượng chính xác. Do đó "khoảng 5 bazơ" có nghĩa là "khoảng 5 bazơ" và cũng là "5 bazơ".

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "tùy ý" hoặc "một cách tùy ý" có nghĩa là sự kiện hoặc tình huống được mô tả sau đó có hoặc không xảy ra và mô tả bao gồm các trường hợp mà sự kiện hoặc tình huống đã nói xảy ra và các trường hợp không xảy ra. Ví dụ, một nhóm được thay thế tùy ý có nghĩa là nhóm đó không được thay thế hoặc được thay thế.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, chữ viết tắt của nhóm bảo vệ, axit amin bất kỳ và các hợp chất khác, trừ khi được chỉ định khác, theo cách sử dụng phổ biến của chúng, các chữ viết tắt được công nhận, hoặc Ủy ban IUPAC-IUB về Danh pháp Sinh hóa (xem, (1972) *Biochem*. 11:1726).

Để làm rõ việc tiết lộ và không giới hạn, mô tả chi tiết được chia thành các phần phụ tiếp theo.

B. Cấu trúc và chức năng u-PA

Chất hoạt hóa plasminogen loại urokinaza (u-PA, còn được gọi là chất hoạt hóa plasminogen urokinaza hoặc niệu) là proteaza serin xúc tác quá trình thủy phân plasminogen thành plasmin. u-PA được tìm thấy trong nước tiểu, máu, dịch tinh và nhiều mô ung thư. Nó tham gia vào nhiều quy trình sinh học, có liên quan đến việc chuyển hóa plasminogen thành plasmin, bản thân nó là proteaza serin. Plasmin có vai trò trong nhiều quy trình bình thường và bệnh lý, bao gồm, ví dụ, di chuyển tế bào và phá hủy mô thông qua sự phân cắt của nhiều phân tử bao gồm fibrin, fibronectin, proteoglycan và laminin. u-PA tham gia vào quá trình tái tạo mô trong quá trình chữa lành vết thương, di chuyển tế bào viêm, tân mạch và xâm lấn tế bào khối u. u-PA cũng phân cắt và hoạt hóa các cơ chất khác, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, yếu tố tăng trưởng tế bào gan/yếu tố phân tán (HGF/SF), dạng tiềm ẩn của metalloproteaza nền màng loại 1 (MT-SP1), yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu, và các yếu tố khác.

Sáng chế đề xuất polypeptit hoạt hóa plasminogen (u-PA) loại urokinaza biến đổi mà được biến đổi để chúng phân cắt trình tự ức chế ở C3, sao cho việc hoạt hóa C3 thành mảnh C3a và C3b được ức chế. Hoạt tính/độ đặc hiệu của polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này sao cho chúng phân cắt C3 có hoạt tính và/hoặc độ đặc hiệu hoặc k_{cat}/k_m lớn hơn so với polypeptit u-PA không được biến đổi, cụ thể là bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1-6. Polypeptit u-PA biến đổi cũng có hoạt tính hoặc độ đặc hiệu hoặc cả hai giảm đối với plasminogen cơ chất sinh lý tự nhiên của polypeptit u-PA không biến tính. Do đó, polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này ức chế sự hoạt hóa bổ thể theo con đường bổ thể. Các polypeptit u-PA được biến đổi cũng thể hiện tính chọn lọc cao hơn để phân cắt C3 so với các cơ chất u-PA khác, như plasminogen. Do đó, polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này không thể hiện các hoạt động phân cắt không mong muốn đối với các cơ chất u-PA bản địa sinh lý để chúng không thể hiện các tác dụng phụ không mong muốn. Theo một số phương án, polypeptit u-PA được biến đổi là miền proteaza hoặc dạng chuỗi đơn; trong những trường hợp như vậy, xystein tự do (vị trí gốc 122 bằng cách đánh số chymotrypsin) được thay thế bằng serine, để giảm hoặc loại bỏ sự kết tụ khi chuẩn bị protein. Theo các phương án, trong đó polypeptit u-PA được sửa đổi có chiều dài đầy

đủ hoặc dạng khác mà nó được hoạt hóa bằng cách phân cắt, gốc ở vị trí 122 (bằng cách đánh số chymotrypsin) thường không được thay thế bằng S để liên kết disunfua có thể hình thành để tạo ra polypeptit hoạt hóa hai chuỗi.

1. Proteaza serin

Proteaza serin (SP), bao gồm enzym được tiết ra và enzym được cô lập trong bào quan dự trữ tế bào chất, có nhiều vai trò sinh lý khác nhau, bao gồm đông máu, chữa lành vết thương, tiêu hóa, đáp ứng miễn dịch, xâm lấn và di căn khối u. Ví dụ, chymotrypsin, trypsin, và elastaza có chức năng trong đường tiêu hóa; yếu tố 10, yếu tố 11, thrombin và plasmin có liên quan đến quá trình đông máu và chữa lành vết thương; và C1r, C1s và convertaza C3 đóng vai trò trong hoạt hóa bổ thể.

Nhóm protein bề mặt tế bào được chỉ định là proteaza serin xuyên màng loại II là các proteaza là các protein có màng neo với các miền ngoại bào. Là protein bề mặt tế bào, chúng đóng một vai trò trong việc truyền tín hiệu nội bào và làm trung gian cho các sự kiện phân giải protein bề mặt tế bào. Các proteaza serine khác được liên kết màng và hoạt động theo cách tương tự. Những người khác được tiết ra. Nhiều proteaza serine phát huy hoạt tính của chúng khi liên kết với các thụ thể trên bề mặt tế bào, và do đó hoạt động trên bề mặt tế bào. Sự phân giải protein trên bề mặt tế bào là một cơ chế tạo ra các protein hoạt động sinh học làm trung gian cho nhiều loại tế bào chức năng.

Proteaza serin, bao gồm proteaza serin được tiết ra và xuyên màng, tham gia vào các quá trình bao gồm sự tiến triển và phát triển tân sinh. Trong khi vai trò chính xác của các proteaza này chưa được giải thích đầy đủ, các proteaza serine và các chất ức chế của chúng có liên quan đến việc kiểm soát nhiều quá trình sinh lý trong và ngoài tế bào, bao gồm các hành động phân hủy trong quá trình xâm lấn và lây lan di căn của tế bào ung thư, và quá trình tân mạch của các khối u có liên quan trong sự tiến triển của khối u. Protein có liên quan đến sự suy thoái và tái tạo của cơ chất ngoại bào (ECM) và góp phần vào quá trình tái tạo mô, và cần thiết cho sự xâm lấn và di căn của ung thư. Hoạt động và/hoặc biểu hiện của một số proteaza đã được chứng minh là có tương quan với sự tiến triển và phát triển của khối u.

Hơn 20 họ (ký hiệu là S1-S27) của proteaza serin đã được xác định và chúng được nhóm thành 6 thị tộc (SA, SB, SC, SE, SF và SG) trên cơ sở độ tương tự về cấu trúc và bằng chứng chức năng khác (Rawlings ND *et al.* (1994) *Meth. Enzymol.* 244:

19-61). Có các tương tự trong cơ chế phản ứng của một số peptidaza serin. Thị tộc chymotrypsin, subtilisin và carboxypeptidaza C có điểm chung là bộ ba xúc tác của serin, aspartat và histidin: serin hoạt động như nucleophil, aspartat như electrophil và histidin như bazơ. Định hướng hình học của gốc xúc tác là tương tự giữa các họ, mặc dù các nếp gấp protein khác nhau. Căn chỉnh tuyến tính của gốc xúc tác thường phản ánh mối quan hệ thị tộc. Ví dụ, bộ ba xúc tác trong thị tộc chymotrypsin (SA) được sắp xếp theo thứ tự HDS, nhưng được sắp xếp DHS trong thị tộc subtilisin (SB) và SDH trong thị tộc carboxypeptidaza (SC).

Ví dụ của proteaza serin của siêu họ chymotrypsin bao gồm chất hoạt hóa plasminogen loại mô (tPA), trypsin, proteaza giống trypsin, chymotrypsin, plasmin, elastase, urokinase (hoặc chất hoạt hóa plasminogen loại tiết niệu, u-PA), acrosin, protein hoạt hóa C, C1 esterase, cathepsin G, chymase và proteaza của dòng đông máu bao gồm kallikrein, thrombin và các yếu tố VIIa, IXa, Xa, XIa và XIIa (Barret, A.J., In: *Proteinase Inhibitors*, Ed. Barrett, A.J., *et al.*, Elsevier, Amsterdam, Pages 3-22 (1986); Strassburger, W. *et al.*, (1983) *FEBS Lett.*, 157 :219-223; Dayhoff, M.O., Atlas of Protein Sequence and Structure, Vol 5, National Biomedical Research Foundation, Silver Spring, Md. (1972); và Rosenberg, R.D. *et al.* (1986) *Hosp. Prac.*, 21: 131-137).

Hoạt tính của proteaza trong họ proteaza serin phụ thuộc vào tập hợp gốc axit amin tạo thành vị trí hoạt động của chúng. Một trong những chất tồn dư luôn là serine; do đó chúng được chỉ định là proteaza serine. Ví dụ, chymotrypsin, trypsin và elastaza chia sẻ cấu trúc tương tự và gốc serine hoạt động của chúng ở cùng một vị trí (Ser195) trong cả ba. Mặc dù có những điểm giống nhau, nhưng chúng có các đặc tính cơ chất khác nhau; chúng phân cắt các liên kết peptit khác nhau trong quá trình tiêu hóa protein. Ví dụ, chymotrypsin thích một chuỗi bên thơm trên phần còn lại mà cacbon cacbonyl là một phần của liên kết peptit bị phân cắt. Trypsin thích gốc Lys hoặc Arg tích điện dương tại vị trí này. Các proteaza serine khác nhau rõ rệt về đặc tính nhận dạng cơ chất của chúng: một số có độ đặc hiệu cao (tức là các proteaza tham gia vào quá trình đông máu và hệ thống bổ thể miễn dịch); một số chỉ đặc hiệu một phần (tức là các proteaza tiêu hóa của động vật có vú là trypsin và chymotrypsin); và những chất khác, như subtilisin, một proteaza vi khuẩn, hoàn toàn không đặc hiệu. Bất chấp những khác biệt về độ đặc hiệu này, cơ chế xúc tác của serine proteaza vẫn được bảo toàn tốt.

Cơ chế phân cắt protein đích bởi proteaza serin dựa trên sự tấn công nucleophil của liên kết peptit đích bởi serin. Xystein, threonin hoặc phân tử nước liên kết với aspartat hoặc kim loại cũng có thể đóng vai trò này. Trong nhiều trường hợp, đặc tính nucleophil của nhóm được cải thiện nhờ sự có mặt của histidin, được giữ ở "trạng thái nhận proton" bởi aspartat. Các chuỗi bên căn chỉnh của serin, histidin và aspartat xây dựng bộ ba xúc tác chung cho hầu hết các proteaza serin. Ví dụ, gốc vị trí hoạt tính của chymotrypsin và proteaza serin là thành viên của họ giống như chymotrypsin, ví dụ như MTSP-1, là Asp102, His57, và Ser195.

Miền xúc tác của tất cả các proteaza serin của siêu họ chymotrypsin có sự tương đồng về trình tự và tương đồng về cấu trúc. Tương đồng trình tự bao gồm việc bảo toàn: 1) các gốc vị trí hoạt động đặc trưng (ví dụ, Ser195, His57, và Asp102 trong trường hợp trypsin); 2) lỗ oxyanion (ví dụ, Gly193, Asp194 trong trường hợp trypsin); và 3) các gốc xystein tạo thành cầu nối disulfide trong cấu trúc (Hartley, B.S., (1974) *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, 24: 152-182). Tương đồng cấu trúc bao gồm 1) một nếp gấp chung được đặc trưng bởi hai cấu trúc khóa Hy Lạp (Richardson, J. (1981) *Adv. Prot. Chem.,* 34: 167-339); 2) cách xử lý chung của gốc xúc tác; và 3) bảo quản chi tiết cấu trúc bên trong lõi của phân tử (Stroud, R.M. (1974) *Sci. Am.*, 231: 24-88).

Trong toàn bộ họ chymotrypsin của proteaza serin, tương tác chính giữa cơ chất và enzym được bảo toàn hoàn toàn, nhưng tương tác chuỗi bên thay đổi đáng kể. Độ tương đồng axit amin chứa túi S1-S4 của vị trí hoạt tính xác định độ đặc hiệu cơ chất của túi cụ thể đó. Việc ghép axit amin của một proteaza serin với proteaza serin khác trong cùng nếp gấp sẽ điều chỉnh độ đặc hiệu của một loại proteaza. Thông thường, axit amin của proteaza chứa túi S1-S4 là axit có chuỗi bên trong vòng 4 đến 5 angstrom của cơ chất. Tương tác mà các axit amin này có với cơ chất proteaza thường được gọi là tương tác "lớp vỏ đầu tiên" vì chúng tiếp xúc trực tiếp với cơ chất. Tuy nhiên, ở đó có thể là tương tác "lớp vỏ thứ hai" và "lớp vỏ thứ ba" cuối cùng định vị axit amin ở lớp vỏ thứ nhất. Hiệu ứng liên kết cơ chất của lớp vỏ thứ nhất và lớp vỏ thứ hai được xác định chủ yếu bởi vòng lặp giữa các miền beta-thùng. Bởi vì các vòng này không phải là yếu tố cốt lõi của protein, tính toàn vẹn của nếp gấp được duy trì trong khi biến thể vòng với độ đặc hiệu cơ chất mới có thể được lựa chọn trong quá trình tiến hóa để đáp ứng hốc điều hòa hoặc chuyển hóa cần thiết ở cấp độ phân tử. Điển hình đối với proteaza serin, axit amin sau trong trình tự chính là yếu tố quyết định độ đặc hiệu: 195, 102, 57

(bộ ba xúc tác); 189, 190, 191, 192 và 226 (S1); 57, vòng lặp giữa 58 và 64, và 99 (S2); 192, 217, 218 (S3); vòng lặp giữa Cys168 và Cys180, 215 và 97 đến 100 (S4); và 41 và 151 (S2'), dựa trên cách đánh số chymotrypsin, trong đó axit amin ở vị trí S1 ảnh hưởng đến độ đặc hiệu P1, axit amin ở vị trí S2 ảnh hưởng đến độ đặc hiệu P2, axit amin ở vị trí S3 ảnh hưởng đến độ đặc hiệu P3, và axit amin ở vị trí S4 ảnh hưởng đến độ đặc hiệu của P4. Vị trí 189 trong proteaza serin là gốc được chôn dưới đáy túi xác định độ đặc hiệu S1. Yếu tố quyết định cấu trúc đối với u-PA được liệt kê trong bảng 4, với miền proteaza cho mỗi proteaza được chỉ định phù hợp với miền proteaza của chymotrypsin. Số bên dưới tiêu đề cột vòng của Cys168-Cys182 và 60 cho biết số lượng axit amin trong vòng giữa hai axit amin và trong vòng. Ký hiệu có/không trong tiêu đề cột Cys191-Cys220 cho biết cầu disulfua có trong proteaza hay không. Các vùng này thay đổi trong họ proteaza serin giống chymotrypsin và đại diện cho yếu tố quyết định cấu trúc ở chính chúng.

2. Cấu trúc

u-PA cADN được nhân dòng từ nhiều loài động vật có vú. Polypeptit tiền thân u-PA hoặc polypeptit tiền pro-urokinaza làm ví dụ bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở polypeptit u-PA của người (SEQ ID NO:1 và được mã hóa bởi SEQ ID NO:7), chuột (SEQ ID NO:52), chuột cống (SEQ ID NO:53), bò (SEQ ID NO:54), lợn (SEQ ID NO:55), thỏ (SEQ ID NO:56), gà (SEQ ID NO:57), khỉ đầu chó màu vàng (SEQ ID NO:58), đười ươi Sumatra (SEQ ID NO:59), chó (SEQ ID NO:60), cừu (SEQ ID NO:61), khỉ đuôi sóc (SEQ ID NO:62), khỉ rhesus (SEQ ID NO:63), vượn đen má trắng phương bắc (SEQ ID NO:64) và tinh tinh (SEQ ID NO:65). Phiên mã mARN thường được dịch mã để tạo ra protein tiền thân chứa chuỗi tín hiệu 20 axit amin ở đầu tận N. Sau khi vận chuyển đến ER, peptit tín hiệu được loại bỏ để tạo ra polypeptit prourokinaza. Polypeptit prourokinaza ví dụ bao gồm nhưng không bị giới hạn ở polypeptit u-PA của người (SEQ ID NO:3), chuột (SEQ ID NO:66), chuột cống (SEQ ID NO:67), bò (SEQ ID NO:68), lợn (SEQ ID NO:69), thỏ (SEQ ID NO: 70), gà (SEQ ID NO:71), khỉ đầu chó màu vàng (SEQ ID NO:72), đười ươi Sumatra (SEQ ID NO:73), chó (SEQ ID NO:74), và cừu (SEQ ID NO:75). Ví dụ, bản sao mARN u-PA của người thường được dịch mã để tạo thành protein tiền thân 431 axit amin (SEQ ID NO:1) chứa trình tự tín hiệu 20 axit amin ở đầu tận N Met Arg Ala Leu Leu Ala Arg Leu Leu Leu Cys Val Leu Val Val Ser Asp Ser Lys Gly (gốc axit amin 1-20 của SEQ ID NO:1). Do

đó, sau khi vận chuyển đến ER và loại bỏ peptit tín hiệu, polypeptit prourokinaza 411 axit amin với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:3 được tạo ra. Như được mô tả chi tiết hơn bên dưới, prourokinaza là tiền enzym hoặc proenzyme còn được xử lý bằng cách phân cắt protein để tạo ra polypeptit u-PA hai chuỗi trưởng thành. Vì vậy, ví dụ, với tham chiếu đến u-PA trưởng thành (SEQ ID NO:3), u-PA hoạt hóa chuỗi kiểu dại chứa chuỗi thứ nhất (chuỗi A), gốc 1-158 được liên kết bởi disulfua với gốc 159-411 (chuỗi B) thông qua liên kết disulfua giữa Cys148 (đánh số chymotrypsin C97a) và Cys279 (đánh số chymotrypsin C122). Do đó, trong polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này, khi miền proteaza được sản xuất, nó chứa C122S thay thế, nhưng khi dạng hoạt hóa được sản xuất là dạng chuỗi 2, gốc ở 122 (đánh số chymotrypsin) là C sao cho nó tạo thành liên kết disulfua với C khác, thường là trong trình tự hoạt hóa (xem thảo luận bên dưới và ví dụ 15).

u-PA tiền chất của người có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:1 và được mã hóa bằng trình tự nucleotit được nêu trong SEQ ID NO: 7. Pro-u-PA của người, còn được gọi là u-PA trưởng thành, thiếu chuỗi tín hiệu được quy định trong SEQ ID NO: 3. Hai đồng dạng của u-PA của con người tồn tại, được tạo ra bằng cách nối thay thế. Dạng 1 của u-PA ở người là dạng chuẩn được mô tả ở trên được nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong đồng dạng 2 của u-PA người, axit amin 1-29 của SEQ ID NO: 1 được thay thế bằng axit amin 1-12 của SEQ ID NO:51, với protein tạo thành chứa 414 axit amin (được nêu trong SEQ ID NO :51). Các biến thể allelic và các biến thể khác của u-PA ở người đã được biết đến. Ví dụ, một biến thể uPA được biết chứa biến đổi axit amin V15L trong trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 1. Trong một ví dụ khác, polypeptit u-PA sửa đổi được biết chứa biến đổi axit amin C299S (C122S bằng cách đánh số chymotrypsin) trong trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1 (tương ứng với trình tự axit amin nêu trong SEQ ID SỐ: 4). Các biến thể bổ sung bao gồm các biến thể chứa các sửa đổi axit amin P121L, D130G, C131W, I194M, K211Q, G366c và A410V trong u-PA trưởng thành được nêu trong SEQ ID NO: 3 (tương ứng với các sửa đổi axit amin P141L, D150G, C151W, I214M, K231Q, G386C và A430V trong SEQ ID NO:1).

Polypeptit u-PA được tổng hợp và tiết ra dưới dạng phân tử tiền enzym chuỗi đơn (còn gọi là prourokinaza hoặc urokinaza chuỗi đơn), được chuyển hóa thành u-PA hai chuỗi hoạt động bởi nhiều loại proteaza bao gồm, ví dụ, plasmin, kallikrein, cathepsin B, matriptaza và yếu tố tăng trưởng thần kinh-gamma. Sự phân cắt để tạo ra

hai dạng chuỗi xảy ra giữa các gốc 158 và 159 (SEQ ID NO:3) trong trình tự prourokinaza của người (tương ứng với các gốc axit amin 178 và 179 trong SEQ ID NO:1). Hai chuỗi thu được được liên kết bằng liên kết disulfua giữa Cys148 và Cys279, do đó tạo thành dạng hai chuỗi của u-PA. Dạng hai chuỗi của u-PA còn được gọi là u-PA khối lượng phân tử cao (HMW-u-PA). HMW-u-PA có thể còn được xử lý thành u-PA khối lượng phân tử thấp (LMW-u-PA) bằng cách phân cắt chuỗi A thành chuỗi ngắn A (A1, axit amin 136-157 của SEQ ID NO:3) và mảnh đầu cuối amin. 21-178 liên kết disulfit với 179-411 liên kết qua Cys tương ứng với Cys148 và Cys279 (SEQ ID NO:3).

Chất hoạt hóa plasminogen loại urokinaza, u-PA, là proteaza serin cổ điển, chứa bộ ba xúc tác His-Asp-Ser, phân cắt liên kết Arg-Val cụ thể trong plasminogen để tạo thành plasmin. Đến lượt mình, plasmin có thể phân cắt u-PA ở Lys158-Ile159 của SEQ ID NO: 3 (tương ứng với Lys15-Ile16 bằng cách đánh số chymotrypsin) tạo thành dạng hai chuỗi được mô tả ở trên. Bộ ba xúc tác của u-PA ở người bao gồm các axit amin His204, Asp255 và Ser356 của SEQ ID NO: 3 (tương ứng với His57, Asp102 và Ser195 bằng cách đánh số chymotrypsin). Các chất còn lại Ser138 và Ser303 của uPA con người được nêu trong SEQ ID NO: 3 được phosphoryl hóa (Franco *et al.* (1997) *J Cell Biol* 137:779-791). U-PA của con người chứa glycosyl hóa liên kết O, ví dụ, fucosyl hóa, ở gốc axit amin Thr18 của SEQ ID NO: 3 (Buko *et al.* (1991) *Proc Natl Acad Sci USA* 88:3992-3996) và glycosyl hóa liên kết N ở gốc axit amin Asn302 của SEQ ID NO: 3. U-PA của người trưởng thành chứa các liên kết disulfua intrachain giữa các gốc C11-C19, C13-C31, C33-C42, C50-C131, C71-C113, C102-C126, C189-C205, C197-C268, C293-C362, C325-C341 và C352-C380 của SEQ ID NO: 3 và liên kết disulfua liên chuỗi giữa các gốc C148-C279 của SEQ ID NO:3.

Dạng trưởng thành của u-PA là protein gốc 411 (tương ứng với gốc axit amin từ 21 đến 431 trong trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1, là dạng tiền chất chứa peptit tín hiệu 20 axit amin). u-PA chứa ba miền: miền serine proteaza, miền kringle và miền yếu tố tăng trưởng. Ở dạng trưởng thành của u-PA ở người, các axit amin 1-158 đại diện cho chuỗi N-đầu A bao gồm vùng nhân tố tăng trưởng (axit amin 1-49), vùng kringle (axit amin 50-131) và trình tự liên kết tên miền vùng (axit amin 132-158). Các axit amin 159-411 đại diện cho miền proteaza serine ở đầu C hoặc chuỗi B. u-PA được tổng hợp và tiết ra dưới dạng phân tử tiền enzym chuỗi đơn, được chuyển đổi thành phân tử u-PA hai chuỗi hoạt động bởi nhiều loại proteaza bao gồm, ví dụ, plasmin, kallikrein,

cathepsin B và yếu tố tăng trưởng thần kinh-gamma. Sự phân cắt thành hai dạng chuỗi xảy ra giữa các gốc 158 và 159 trong một trình tự u-PA trưởng thành (tương ứng với các gốc axit amin 178 và 179 trong SEQ ID NO: 3). Hai chuỗi kết quả được giữ với nhau bằng liên kết disulfide, do đó tạo thành dạng hai chuỗi của u-PA.

Chất hoạt hóa plasminogen loại urokinaza chứa ba miền: miền proteaza serin, miền kringle và miền yếu tố tăng trưởng. Ở dạng tiền enzym hoặc proenzym của u-PA của người, axit amin 1-158 của SEQ ID NO:3 đại diện cho chuỗi A đầu tận N (hoặc chuỗi dài A) bao gồm vùng yếu tố tăng trưởng biểu bì (axit amin 1-49), miền kringle (axit amin 50-131) và vùng liên kết liên miền (axit amin 132-158) và axit amin 159-411 đại diện cho miền proteaza serin đầu tận C có hoạt tính xúc tác hoặc chuỗi B. Miền yếu tố tăng trưởng biểu bì chịu trách nhiệm liên kết u-PA với thụ thể u-PA cố định trên bề mặt tế bào (uPAR). Trong nền ngoại bào, u-PA được gắn với màng tế bào bằng cách liên kết với thụ thể u-PA. LMW-u-PA có hoạt tính phân giải protein nhưng không liên kết với thụ thể u-PA. Miền proteaza serin chứa vòng tiếp xúc với bề mặt xung quanh gốc 37, 60, 96, 110, 170 và 185, bằng cách đánh số chymotrypsin. Khi hoạt hóa hoặc phân cắt, đầu tận amin chèn vào khe liên kết kỵ nước của miền proteaza xúc tác tạo thành tương tác kỵ nước và cầu nối muối với túi bên của Asp194 để ổn định túi liên kết cơ chất và lỗ oxyanion trong cấu trúc sản xuất xúc tác. Asp194, theo cách đánh số chymotrypsin, tham gia vào liên kết hydro với nhóm amin chuỗi chính của Gly142 và nhóm carbonyl chuỗi chính của Lys143 (Blouse *et al.* (2009) *J Biol Chem* 284:4647-4657). Thay đổi về cấu trúc sau khi phân cắt liên quan đến bốn vùng bị rối loạn của miền hoạt hóa, bao gồm vòng hoạt hóa (gốc 16-21), vòng tự phân (gốc 142-152), vòng ổn định oxyanion (gốc 184-194) và khung lối vào S1 (gốc 216-223), tất cả đánh số theo cách đánh số chymotrypsin (xem, Blouse *et al.* (2009) *J Biol Chem* 284:4647-4657; Hedstrom (2002) *Chem Rev* 102:4501-4524; Huber and Bode (1978) *Acc Chem Res* 11:114-122; Madison *et al.* (1993) *Science* 262:419-421).

Yếu tố quyết định cấu trúc đối với u-PA được nêu trong bảng 4 dưới đây với cách đánh số dựa trên việc đánh số chymotrypsin trưởng thành. Số bên dưới tiêu đề cột vòng Cys168-Cys182 và 60 cho biết số lượng axit amin trong vòng giữa hai axit amin và trong vòng. Ký hiệu có trong tiêu đề cột Cys191-Cys220 cho biết có cầu nối disulfua. Các vùng này có thể thay đổi trong họ proteaza serin giống chymotrypsin và tự chúng đại diện cho yếu tố quyết định cấu trúc. Việc biến đổi polypeptit u-PA để thay đổi một

hoặc nhiều axit amin bất kỳ trong túi S1-S4 ảnh hưởng đến độ đặc hiệu hoặc tính chọn lọc của polypeptit u-PA đối với cơ chất đích. Độ đặc hiệu cơ chất mở rộng (P1-P4) cho thấy u-PA có độ đặc hiệu cao đối với sự phân cắt sau P1 Arg, ưu tiên axit amin nhỏ ở vị trí P2, ưu tiên axit amin phân cực nhỏ (Thr và Ser) ở vị trí P3 và không có ưu tiên ở vị trí P4 (Ke *et al.* (1997) *J. Biol. Chem.*, 272:16603-16609; Harris *et al.* (2000) *Proc Natl Acad Sci USA*, 97:7754-7759).

Bảng 4. Yếu tố quyết định cấu trúc đối với sự phân cắt cơ chất u-PA (đánh số chymotrypsin)

Gốc xác định độ đặc hiệu													
S4					S3		S2			S1			
171	174	180	215	Cys168 Cys182	192	218	99	57	vòng của 60	189	190	226	Cys191 Cys220
H	S	M	W	15	Q	R	H	H	11	D	S	G	có

3. Chức năng/hoạt tính

Chất hoạt hóa plasminogen loại urokinaza là proteaza serin xúc tác quá trình thủy phân plasminogen thành plasmin. Plasmin tác động trực tiếp lên sự phân hủy protein cơ chất ngoại bào (Andreasen *et al.* (2000) *Cell. Mol. Life Sci.* 57:25-40). u-PA đóng một vai trò quan trọng trong việc kết dính tế bào, di chuyển và xâm lấn, tái tạo mô và ung thư (Blasi và cộng sự (2002) Rev Mol Cell Biol 3: 932; Andreasen *et al.* (2000) *Cell. Mol. Life Sci.* 57:25-40; Mondino and Blasi (2004) *Trends Immunol* 25:450; Ploug (2003) *Curr Pharm Des* 9:1499). Biểu hiện bất thường của u-PA có liên quan đến bệnh viêm khớp dạng thấp, viêm mạch dị ứng, bệnh nấm da bì và khả năng xâm lấn của các khối u ác tính.

u-PA được điều hòa bằng cách liên kết với thụ thể bề mặt tế bào ái lực cao uPAR. Sự liên kết của u-PA với uPAR làm tăng tốc độ hoạt hóa plasminogen và tăng cường sự phân giải nền ngoại bào và xâm nhập tế bào. Phức hợp nhị phân được tạo thành giữa uPAR và u-PA tương tác với plasminogen liên kết màng để tạo thành phức chất hoạt hóa bậc cao hơn làm giảm Km (tức là hằng số tốc độ động học của ái lực gần đúng cho cơ chất) để hoạt hóa plasminogen (Bass *et al.* (2002) *Biochem. Soc. Trans.*, 30: 189-

194). Liên kết của u-PA với uPAR bảo vệ proteaza khỏi ức chế bởi chất ức chế cognat, tức là PAI-1. Điều này là vì u-PA chuỗi đơn thường có trong huyết tương không dễ bị PAI-1 ức chế, và u-PA hoạt tính bất kỳ trong huyết tương sẽ bị PAI-1 ức chế. U-PA hoạt tính mà là thụ thể được liên kết hoàn toàn có sẵn để ức chế bởi PAI-1, tuy nhiên, PAI-1 không thể tiếp cận phân tử hoạt tính liên kết (Bass *et al.* (2002) *Biochem. Soc. Trans.*, 30: 189-194). Kết quả là, u-PA chủ yếu có chức năng trên bề mặt tế bào và chức năng của nó tương quan với sự hoạt hóa của quá trình phân giải protein ngoại bào phụ thuộc plasmin.

u-PA cũng phân cắt yếu tố tăng trưởng tế bào gan/yếu tố phân tán (HGF/SF), dạng tiềm ẩn của metalloproteaza cơ chất màng loại 1 (MT-SP1; matriptase), yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu C (PDGF-C), yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu D (PDGF-D), yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu DD (PDGF-DD) và các protein khác (xem, ví dụ, Hurst *et al.* (2012) *Biochem J* 441:909-918; Ustach and Kim (2005) *Mol Cell Biol* 5:6279-6288; Ehnman *et al.* (2009) *Oncogene* 28(4):534-544). Plasmin phân giải các cục fibrin, phân cắt fibrin, fibronectin, thrombospondin, laminin và yếu tố von Willebrand, phân giải protein các chất trung gian của hệ thống bổ thể và hoạt hóa các collagenase. Như vậy, plasmin tham gia vào quá trình phân hủy huyết khối hoặc phân hủy cơ chất ngoại bào, liên kết với plasmin dẫn đến các bệnh mạch máu và ung thư. Ví dụ, các thành phần của hệ thống hoạt hóa plasminogen đã được quan sát thấy biểu hiện nhiều trong các khối u ác tính. Yếu tố tăng trưởng/yếu tố phân tán tế bào gan điều chỉnh sự phát triển của tế bào, khả năng vận động và hình thái tế bào bằng cách liên kết HGF đã hoạt hóa với thụ thể HGF c-Met và khả năng kích thích quá trình phân bào, khả năng di chuyển của tế bào và sự xâm nhập ma trận liên kết nó với sự hình thành mạch, tạo khối u và tái tạo mô. Các yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu điều chỉnh sự phát triển và phân chia tế bào, và đóng một vai trò quan trọng trong quá trình hình thành mạch, khi không được kiểm soát, là một đặc điểm của bệnh ung thư. Sau khi được hoạt hóa bằng cách phân cắt phân giải protein, các PDGF liên kết các tyrosine kinase của thụ thể PGDF dẫn đến quá trình phosphoryl hóa và một số con đường truyền tín hiệu liên quan đến ung thư. Do vai trò của u-PA và các protein được đề cập ở trên trong các bệnh mạch máu, các polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này bị thay đổi làm giảm tính chọn lọc đối với các protein này. Do những thay đổi về độ đặc hiệu và hoạt tính của chúng, các polypeptit u-PA được biến đổi được đề xuất trong bản mô

tả này thể hiện hoạt tính giảm hoặc không có hoặc không có hoạt tính đáng kể trên cơ chất bản địa và hoạt tính cao, so với u-PA không biến đổi trên protein bổ thể C3. Kết quả là, ở liều lượng điều trị, các polypeptit u-PA được sửa đổi được cung cấp trong bản mô tả này đặc biệt ức chế sự hoạt hóa bổ thể nhưng không có hoặc ít tác dụng phụ do sự phân cắt đích u-PA tự nhiên.

C. Ức chế bổ thể bằng C3 nhắm đích

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này biểu hiện độ đặc hiệu và/hoặc hoạt tính tăng cho trình tự phân cắt ức chế trong protein bổ thể C3 so với u-PA không chứa biến đổi axit amin (*ví dụ* u-PA kiểu dại của người (xem, SEQ ID NO:1 hoặc 3)) hoặc miền xúc tác hoặc miền proteaza của nó (xem, SEQ ID NO: 2) hoặc polypeptit u-PA không biến đổi tương ứng bao gồm C122S thay thế, bằng cách đánh số chymotrypsin. Việc thay thế bằng S ở gốc 122 không làm thay đổi độ đặc hiệu hoặc hoạt tính trên C3, nhưng làm giảm sự kết tụ. Vì C3 tham gia vào 3 con đường khởi đầu của bổ thể (xem, ví dụ, Fig.1), nhắm đích C3 bằng cách ức chế phân giải protein cung cấp một đích điều trị chung và rộng rãi để bất hoạt dòng bổ thể. Sự phân cắt bất hoạt của C3 chặn hoạt động đầu cuối của bổ thể cũng như vòng khuếch đại con đường thay thế. Tất cả ba con đường hội tụ tại C3 (ví dụ, xem Fig.1). Nhờ khả năng ức chế hoạt hóa bổ thể, các polypeptit u-PA đã được sửa đổi như vậy có thể được sử dụng để điều trị các bệnh, tình trạng và bệnh lý khác nhau liên quan đến hoạt hóa bổ thể, như đáp ứng viêm và các bệnh tự miễn dịch. Hoạt hóa bổ sung có liên quan đến sự phát triển của các bệnh và tình trạng bằng cách thúc đẩy viêm cục bộ và tổn thương các mô gây ra một phần do việc tạo ra các phân tử tác động và phức hợp tấn công màng. Trong một ví dụ, như trong nhiều bệnh tự miễn, bổ thể tạo ra tổn thương mô vì nó được hoạt hóa trong những trường hợp không thích hợp, như bởi kháng thể đối với mô vật chủ. Trong các tình huống khác, bổ thể có thể được hoạt hóa bình thường, như nhiễm trùng huyết, nhưng vẫn góp phần vào sự tiến triển của bệnh, như trong hội chứng suy hô hấp. Về mặt bệnh lý, bổ thể có thể gây tổn thương cơ bản cho mạch máu (viêm mạch), màng đáy thận và các tế bào biểu mô và nội mô kèm theo (viêm thận), bao hoạt dịch khớp (viêm khớp), và hồng cầu (tán huyết) nếu không được kiểm soát đầy đủ. Vai trò của C3 trong hoạt hóa bổ thể được thảo luận chi tiết hơn dưới đây.

1. Protein bổ thể C3 và vai trò của nó trong việc bắt đầu bổ thể

Hệ thống bổ thể liên quan đến hơn 30 protein tan được và liên kết với màng tế bào mà có chức năng không chỉ ở đáp ứng miễn dịch qua trung gian kháng thể, mà còn ở đáp ứng miễn dịch bẩm sinh để nhận biết và tiêu diệt tác nhân gây bệnh như vi khuẩn, tế bào nhiễm virut và ký sinh trùng. Quá trình hoạt hóa bổ thể được bắt đầu trên bề mặt mầm bệnh thông qua ba con đường riêng biệt: con đường cổ điển, con đường thay thế và con đường lectin. Các con đường này khác biệt ở chỗ các thành phần cần thiết cho sự khởi đầu của chúng là khác nhau, nhưng con đường cuối cùng tạo ra cùng tập hợp phân tử tác động (ví dụ, convertaza C3) phân cắt protein bổ thể C3 để hoạt hóa sự tạo thành phức hợp tấn công màng (MAC) (xem, ví dụ, Fig.1). Do đó, protein bổ thể C3 là đích hấp dẫn cho liệu pháp vì điều biến C3 dẫn đến điều biến nhiều opsonin, anaphylatoxin và MAC. Hơn nữa, protein ức chế bổ thể có trong tự nhiên bao gồm yếu tố H (FH), CR1, Ig thụ thể bổ thể (CR1g), DAF và MCP ức chế ở mức C3.

Có ba (3) con đường hoạt hóa bổ thể (Xem Fig. 1 mô tả các con đường này). Các con đường của phần bổ sung là khác biệt; mỗi loại dựa trên các phân tử và cơ chế khác nhau để bắt đầu. Các con đường tương tự nhau ở chỗ chúng hội tụ để tạo ra cùng một tập hợp các phân tử hiệu ứng, tức là các chuyển đổi C3. Trong con đường cổ điển và lectin C4b2b hoạt động như một C3 convertase; trong con đường thay thế, C3bBb là một chuyển đổi C3 (xem Bảng 5). Sự phân cắt C3 tạo ra C3b, hoạt động như một opsonin và là phân tử tác động chính của hệ thống bổ thể cho các phản ứng bổ thể tiếp theo, và C3a, là chất trung gian peptit gây viêm. Việc bổ sung C3b vào mỗi C3 convertase tạo thành C5 convertase tạo ra C5a và C5b. C5a, giống như C3a, là chất trung gian peptit gây viêm. C5b làm trung gian cho các sự kiện "muộn" của quá trình hoạt hóa bổ thể, bắt đầu chuỗi phản ứng mà đỉnh điểm là tạo ra phức hợp tấn công màng (MAC). Mặc dù ba con đường tạo ra các chuyển đổi C3 và C5 khác nhau, tất cả các con đường đều tạo ra các sản phẩm phân cắt của C3 và C5 và tạo thành MAC. Ngoài ra, C3 có thể được phân cắt và hoạt hóa bởi các proteaza bên ngoài, như enzym lysosome và elastase (Markiewski and Lambris (2007) *Am J Pathology* 171:715-727; Ricklin and Lambris (2007) *Nat Biotechnol* 25:1265-1275).

Bảng 5. Tầng bổ thể			
	Con đường thay thế	Con đường cổ điển	Con đường lectin

Chất hoạt hóa	Phân tử bề mặt chất gây bệnh LPS, axit teichoic, zymosan	IgM và IgG liên kết với kháng nguyên; phân tử không miễn dịch	Chất gây bệnh qua việc nhận biết hydratcacbon trên bề mặt
C3 convertaza	C3bBb	C4b2b	C4b2b
C5 convertaza	C3bBb3b	C4b2b3b	C4b2b3b
MAC	C5678poly9	C5678poly9	C5678poly9
anaphylatoxin	C3a, C5a	C3a, C4a, C5a	C3a, C4a, C5a

a. Con đường cổ điển

C1q là thành phần thứ nhất của con đường cổ điển của bổ thể. C1q là protein liên kết phụ thuộc vào canxi kết hợp với họ collectin của protein do tương đồng cấu trúc chia sẻ chung (Malhotra *et al.*, (1994) *Clin Exp Immunol.* 97(2):4-9; Holmskov *et al.* (1994) *Immunol Today* 15(2):67-74). Collectins, thường được gọi là các phân tử nhận dạng mẫu, thường hoạt động như opsonin để nhắm đích các mầm bệnh để thực bào bởi các tế bào miễn dịch. Trái ngược với các tập hợp thông thường, như MBL, miền nhận dạng hình cầu tận cùng cacboxy của C1q không có hoạt tính lectin nhưng có thể đóng vai trò là phân tử nhận dạng mẫu "tích điện" do sự khác biệt rõ rệt về điện thế bề mặt tĩnh điện của miền hình cầu của nó (Gaboriaud *et al.* (2003) *J. Biol. Chem.* 278(47):46974-46982).

C1q bắt đầu con đường bổ thể thông thường theo hai cách khác nhau. Đầu tiên, con đường cổ điển được hoạt hóa bởi sự tương tác của C1q với các phức hợp miễn dịch (tức là phức hợp kháng nguyên-kháng thể hoặc kháng thể IgG hoặc IgM tổng hợp) do đó liên kết đáp ứng miễn dịch dịch thể qua trung gian kháng thể với sự hoạt hóa bổ thể. Khi phần Fab (vùng biến đổi) của IgM hoặc IgG liên kết với kháng nguyên, cấu trúc của vùng Fc (không đổi) bị thay đổi, cho phép C1q liên kết. C1q phải ràng buộc ít nhất 2 vùng Fc để được hoạt hóa. Tuy nhiên, C1q cũng có thể hoạt hóa bổ thể trong trường hợp không có kháng thể, do đó hoạt động trong phản ứng miễn dịch bẩm sinh hoặc tức thì đối với nhiễm trùng. Bên cạnh việc bắt đầu bởi một kháng thể, sự hoạt hóa bổ thể cũng đạt được bằng sự tương tác của C1q với các phân tử không miễn dịch như polyanions (lipopolysaccharides của vi khuẩn, ADN và RNA), một số polysaccharide nhỏ, màng

virus, protein phản ứng C (CRP), amyloid huyết thanh Thành phần P (SAP), và vi khuẩn, nấm và thành phần màng virut.

C1q là một phần của phức hợp C1 mà chứa phân tử đơn C1q liên kết với mỗi hai phân tử của tiền enzym C1r và C1s. Liên kết của nhiều hơn một trong số các miền hình cầu C1q đối với bề mặt đích (như kháng thể tổng hợp hoặc mầm bệnh), gây ra sự thay đổi hình dạng trong phức hợp $(C1r:C1s)_2$ dẫn đến việc hoạt hóa proteaza C1r để phân cắt C1s để tạo ra proteaza serin có hoạt tính. C1 có hoạt tính phân cắt thành phần bổ thể tiếp theo C4 và C2 để tạo ra C4b và C2b, cùng nhau tạo thành convertaza C3 của con đường cổ điển. Convertaza C3 phân cắt C3 thành C3b, gắn cộng hóa trị vào bề mặt mầm bệnh và hoạt động như opsonin, và C3a, kích thích viêm. Một số phân tử C3b kết hợp với phức hợp C4b2b tạo ra C4b2b3b là convertaza C5 theo tầng cổ điển. Bảng 6 tóm tắt protein liên quan đến con đường cổ điển của bổ thể.

Bảng 6. Protein của con đường cổ điển

Thành phần tự nhiên	Dạng hoạt hóa	Chức năng của dạng hoạt hóa
C1 ($C1q:(C1r:C1s)_2$)	C1q	Liên kết trực tiếp với bề mặt chất gây bệnh hoặc gián tiếp với kháng gen liên kết với chất gây bệnh
	C1r	Phân tách C1s với proteaza hoạt hóa
	C1s	Phân tách C4 và C2
C4	C4b	Liên kết với chất gây bệnh và hoạt động như opsonin; liên kết C2 để phân cắt bằng C1s
	C4a	Trung gian peptit của viêm
C2	C2b	Enzym hoạt hóa của con đường cổ điển C3/C5 convertaza; phân cắt C3 và C5
	C2a	Tiền chất của C2 kinin hoạt động mạch
C3	C3b	Liên kết với bề mặt chất gây bệnh và hoạt động như opsonin; bắt đầu khuếch đại qua con đường thay thế; liên kết C5 để phân cắt bằng C2b
	C3a	Trung gian peptit của viêm

b. Con đường thay thế

Con đường thay thế được bắt đầu bởi chất gây bệnh lạ khi không có kháng thể. Sự khởi đầu của bổ thể bằng con đường thay thế xảy ra thông qua sự thủy phân tự phát của C3 thành C3b. Lượng nhỏ C3b luôn có trong dịch cơ thể, do hoạt tính của proteaza trong huyết thanh và mô. Tế bào tự thân của vật chủ thường chứa mức axit sialic ở màng làm bất hoạt C3b nếu nó liên kết, nhưng vi khuẩn chứa mức axit sialic bên ngoài thấp và do đó liên kết C3b mà không làm bất hoạt nó. C3b trên bề mặt mầm bệnh được nhận biết bởi tiền enzym proteaza yếu tố B. Yếu tố B được phân cắt bởi yếu tố D. Yếu tố D là proteaza hoạt hóa duy nhất của hệ thống bổ thể lưu hành như enzym có hoạt tính chứ không phải là tiền enzym, nhưng vì yếu tố B là cơ chất duy nhất cho yếu tố D, sự có mặt của proteaza có hoạt tính ở mức độ thấp trong huyết thanh bình thường nói chung là an toàn cho vật chủ. Sự phân cắt của yếu tố B bởi yếu tố D tạo ra sản phẩm có hoạt tính Bb có thể kết hợp với C3b để tạo thành C3bBb, convertaza C3 của con đường thay thế. Tương tự như con đường cổ điển, convertaza C3 sản xuất nhiều C3b và C3a hơn từ C3. C3b gắn cộng hóa trị vào bề mặt mầm bệnh và hoạt động như opsonin và khởi động thêm con đường thay thế, trong khi C3a kích thích quá trình viêm. Một số C3b tham gia vào phức hợp để tạo thành C3bBb3b, con đường thay thế convertaza C5. C3bBb3b được ổn định bởi properdin protein huyết tương hoặc yếu tố P liên kết với bề mặt vi sinh vật và ổn định convertaza. Bảng 7 tóm tắt protein liên quan đến con đường thay thế của bổ thể.

Bảng 7. Protein của con đường thay thế

Thành phần tự nhiên	Dạng hoạt hóa	Chức năng của dạng hoạt hóa
C3	C3b	Liên kết với bề mặt chất gây bệnh, liên kết yếu tố B để phân cắt bằng yếu tố D
Yếu tố B	Ba	Mảnh nhỏ của yếu tố B, chức năng không xác định
	Bb	Enzym hoạt hóa của C3 convertaza và C5 convertaza
Yếu tố D	D	Proteaza serin huyết tương, phân cắt yếu tố B khi nó liên kết với C3b thành Ba và Bb

Bảng 7. Protein của con đường thay thế		
Thành phần tự nhiên	Dạng hoạt hóa	Chức năng của dạng hoạt hóa
Yếu tố P (properdin)	P	Protein huyết tương có ái lực với C3bBb convertaza trên tế bào vi khuẩn; ổn định convertaza

c. Con đường lectin

Con đường lectin (còn được gọi là con đường MBL) được bắt đầu sau khi nhận biết và liên kết mẫu phân tử liên quan đến chất gây bệnh (PAMP; tức là gốc hydrat cacbon) bởi protein lectin. Ví dụ của protein lectin hoạt hóa con đường lectin của bổ thể bao gồm lectin liên kết mannoza (MBL) và ficolin (tức là L-ficolin, M-ficolin và H-ficolin). MBL là thành viên của họ protein collectin và do đó tồn tại dưới dạng oligome của tiểu đơn vị gồm chuỗi polypeptit tương đồng, mỗi chuỗi chứa miền giàu xystein, giống collagen, cổ và nhận dạng hydrat cacbon hoặc lectin. MBL hoạt động như phân tử nhận dạng mẫu để nhận biết gốc hydrat cacbon, cụ thể là đường trung tính như mannoza hoặc N-axetylglucosamin (GlcNAc) trên bề mặt của mầm bệnh thông qua miền lectin hình cầu của nó theo cách phụ thuộc vào canxi. MBL cũng hoạt động như opsonin để tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình thực bào của tế bào thực bào vi khuẩn, virut và nấm gây bệnh. Chất khởi đầu bổ sung của con đường lectin bao gồm ficolin bao gồm L-ficolin, M-ficolin và H-ficolin (xem ví dụ, Liu *et al.* (2005) *J Immunol.* 175:3150-3156). Tương tự với MBL, ficolin nhận ra gốc hydrat cacbon, ví dụ như cấu trúc N-axetyl glucosamin và mannoza.

Hoạt hóa con đường thay thế bằng MBL hoặc ficolin tương tự với việc hoạt hóa con đường cổ điển bằng C1q, theo đó một phân tử lectin đơn lẻ tương tác với hai tiền enzym của proteaza. Trong trường hợp của các protein lectin, các hợp tử là các proteaza serine liên kết với MBL, MASP-1 và MASP-2, tương đồng chặt chẽ với các hợp tử C1r và C1s của con đường cổ điển. Khi nhận biết PAMP bởi một protein lectin, như bằng cách liên kết với bề mặt mầm bệnh, MASP-1 và MASP-2 được hoạt hóa để phân cắt C4 và C2 để tạo thành MBL cascade C3 convertase. C3b sau đó tham gia vào phức hợp để tạo thành chuỗi MBL C5 convertase. Hoạt hóa MASP không chỉ liên quan đến các phản ứng với vi sinh vật mà còn trong bất kỳ phản ứng nào liên quan đến việc phơi nhiễm đường trung tính, bao gồm nhưng không giới hạn ở tổn thương mô, như được quan sát

thấy trong cấy ghép nội tạng. Giống như tầng thay thế, tầng MBL được hoạt hóa độc lập với kháng thể; giống như tầng cổ điển, tầng MBL sử dụng C4 và C2 để tạo thành C3 convertase. Bảng 8 tóm tắt các protein liên quan đến con đường lectin của bổ thể.

Bảng 8. Protein của con đường lectin		
Thành phần tự nhiên	Dạng hoạt hóa	Chức năng của dạng hoạt hóa
MBL	MBL	Nhận biết PAMP, như trên bề mặt chất gây bệnh (ví dụ, thông qua nhận dạng hydrat cacbon)
Ficolin	L-Ficolin; M-Ficolin, hoặc H-Ficolin	Nhận biết PAMP, như trên bề mặt chất gây bệnh (ví dụ, thông qua nhận dạng hydrat cacbon)
MASP-1	MASP-1	Phân cắt C4 và C2
MASP-2	MASP-2	Phân cắt C4 và C2

d. Chức năng tác động qua trung gian bổ thể

Bất kể con đường bắt đầu nào được sử dụng, kết quả cuối cùng là sự tạo thành các đoạn protein bổ thể được hoạt hóa (ví dụ như C3a, C4a, và C5a anaphylatoxin và phức hợp tấn công màng C5b 9), chúng hoạt động như các phân tử tác động để trung gian các chức năng tác động đa dạng. Việc tế bào nhận biết các phân tử tác động bổ thể để bắt đầu các chức năng của cơ quan tác động (ví dụ, điều hòa hóa học và opso hóa) được thực hiện qua trung gian của một nhóm đa dạng các thụ thể bổ thể. Các thụ thể bổ thể được phân bố trên nhiều loại tế bào bao gồm hồng cầu, đại thực bào, tế bào B, bạch cầu trung tính và tế bào mast. Khi liên kết một thành phần bổ thể với thụ thể, các thụ thể bắt đầu một dòng chảy tín hiệu nội bào, dẫn đến các phản ứng của tế bào như kích thích sự thực bào của vi khuẩn và tiết ra các phân tử gây viêm từ tế bào. Ví dụ, các thụ thể bổ thể CR1 và CR2 nhận biết C3b, C4b, và các sản phẩm của chúng rất quan trọng để kích thích quá trình hóa học. CR3 (CD11b/CD18) và CR4 (CD11c/CD18) là integrin quan trọng tương tự trong các phản ứng thực bào nhưng cũng đóng một vai trò trong việc kết dính và di chuyển bạch cầu để đáp ứng với iC3b. Các thụ thể C5a và C3a là các thụ thể kết hợp với protein G có vai trò trong nhiều chức năng trung gian tiền viêm của các anaphylatoxin C5a và C3a. Ví dụ, các thụ thể cho C3a, C3aR, tồn tại trên tế bào mast,

bạch cầu ái toan, bạch cầu trung tính, bạch cầu ưa bazơ và bạch cầu đơn nhân và có liên quan trực tiếp đến tác dụng chống viêm của C3a.

Do đó, qua thụ thể bổ thể, các mảnh phân tử tác động bổ thể làm trung gian vài chức năng bao gồm điều hòa hóa học bạch cầu, hoạt hóa đại thực bào, tính thấm thành mạch và ly giải tế bào (Frank, M. và Fries, L. Complement. In Paul, W. (ed.) Fundamental Immunology, Raven Press, 1989). Tóm tắt một số chức năng hiệu ứng của các sản phẩm bổ sung được liệt kê trong bảng 9.

Bảng 9: Phân tử tác động bổ thể và chức năng

Sản phẩm	Hoạt tính
C2b (prokinin)	tích tụ dịch lỏng cơ thể
C3a (anaphylatoxin)	basophil và phân hủy tế bào mast; tính thấm thành mạch tăng cường; co cơ trơn; cảm ứng tế bào T ức chế
C3b và sản phẩm của nó	opsonin hóa; hoạt hóa thực bào
C4a (anaphylatoxin)	basophil & hoạt hóa tế bào mast; co cơ trơn; tính thấm mạch tăng cường
C4b	opsonin hóa
C5a (anaphylatoxin; yếu tố hóa chất)	basophil & hoạt hóa tế bào mast; tính thấm mạch tăng cường; co cơ trơn; hóa chất điều trị; tập hợp bạch cầu trung tính; kích thích chuyển hóa oxy hóa; kích thích giải phóng leukotrien; cảm ứng tế bào T trợ giúp
C5b67	hóa chất điều trị; gắn vào các màng tế bào khác và phân giải tế bào bên ngoài
C5b6789 (C5b-9)	phân giải tế bào đích

i. Phân giải qua trung gian bổ thể: phức hợp tấn công màng

Bước cuối cùng của tầng bổ thể theo cả ba con đường là sự tạo thành phức hợp tấn công màng (MAC) (Hình 1). C5 có thể bị phân cắt bởi bất kỳ C5 convertase nào thành C5a và C5b. C5b kết hợp với C6 và C7 trong dung dịch, và phức hợp C5b67 liên kết với màng lipid của mầm bệnh thông qua các vị trí kỵ nước trên C7. C8 và một số phân tử của C9, cũng có các vị trí kỵ nước, tham gia tạo thành phức hợp tấn công màng, còn được gọi là C5b6789 hoặc C5b-9. C5b-9 tạo thành một lỗ trên màng mà nước và

các chất hòa tan có thể đi qua, dẫn đến ly giải thẩm thấu và làm chết tế bào. Nếu bổ thể được hoạt hóa trên một kháng nguyên không có màng lipid mà C5b67 có thể gắn vào, phức hợp C5b67 có gen liên kết với các tế bào lân cận và bắt đầu ly giải bên ngoài. Một MAC đơn lẻ có thể ngăn chặn một hồng cầu, nhưng các tế bào nhân có thể kết thúc MAC và sửa chữa tổn thương trừ khi có nhiều MAC. Các vi khuẩn gram âm, với màng ngoài lộ ra ngoài và các virut được bao bọc, nói chung rất dễ bị ly giải qua trung gian bổ thể. Ít nhạy cảm hơn là vi khuẩn Gram dương, có màng sinh chất được bảo vệ bởi lớp peptidoglycan dày của chúng, vi khuẩn có vỏ nang hoặc lớp chất nhờn xung quanh thành tế bào, hoặc virut không có vỏ lipid. Tương tự, MAC có thể bị phá vỡ bởi các protein liên kết với phức hợp trước khi chèn màng như chất ức chế bổ thể (SIC) và clusterin của Streptococcal. Thông thường, MAC giúp tiêu diệt vi khuẩn Gram âm cũng như các tế bào người hiển thị các kháng nguyên lạ (tế bào nhiễm vi rút, tế bào khối u, v.v.) bằng cách gây ly giải chúng và cũng có thể làm hỏng lớp vỏ của virut được bao bọc.

ii. Viêm

Viêm là quá trình trong đó mạch máu giãn ra và trở nên dễ thẩm thấu hơn, do đó tạo điều kiện cho các tế bào bảo vệ cơ thể và các hóa chất phòng vệ rời khỏi máu và đi vào các mô. Quá trình hoạt hóa bổ sung dẫn đến sự hình thành một số chất trung gian tiền viêm như C3a, C4a và C5a. Các dạng anaphylatoxin nguyên vẹn trong huyết thanh hoặc huyết tương nhanh chóng được chuyển đổi thành các dạng C3a-desArg, C4a-desArg, hoặc C5a-desArg ổn định hơn, ít hoạt động hơn, bởi carboxypeptidase N. C3a, C4a và C5a, và ở mức độ thấp hơn các dẫn xuất desArg của chúng, là các polypeptit có hoạt tính sinh học mạnh, được gọi là anaphylatoxin vì hoạt động gây viêm của chúng. Anaphylatoxin liên kết với các thụ thể trên nhiều loại tế bào khác nhau để kích thích co cơ trơn, tăng tính thấm thành mạch, hoạt hóa tế bào mast giải phóng chất trung gian gây viêm. C5a, anaphylatoxin mạnh nhất, chủ yếu tác động lên các tế bào bạch cầu, đặc biệt là bạch cầu trung tính. C5a kích thích sự bám dính của bạch cầu vào thành mạch máu tại vị trí nhiễm trùng bằng cách kích thích sự gia tăng biểu hiện của các phân tử kết dính để bạch cầu có thể chui ra khỏi mạch máu và vào các mô, một quá trình được gọi là diapedesis. C5a cũng kích thích bạch cầu trung tính tạo ra các loại oxy phản ứng để tiêu diệt ngoại bào, enzym phân giải protein và leukotriene. C5a cũng có thể khuếch đại hơn nữa quá trình viêm gián tiếp bằng cách tạo ra các chemokine, cytokine và các chất trung

gian tiền viêm khác. C5a cũng tương tác với các tế bào mast để giải phóng các chất giãn mạch như histamine để các mạch máu trở nên dễ thấm hơn. C3a cũng tương tác với các tế bào bạch cầu, với các tác động chính lên bạch cầu ái toan, cho thấy vai trò của C3a trong chứng viêm dị ứng. C3a gây co cơ trơn, tăng cường tính thấm thành mạch, làm thoái hóa các basophils và giải phóng histamine và các chất hoạt động mạch máu khác. C2a có thể được chuyển đổi thành C2 kinin, có tác dụng điều chỉnh huyết áp bằng cách làm giãn mạch máu.

Mặc dù về mặt kỹ thuật không được xem là anaphylatoxin, iC3b, dẫn xuất bất hoạt của C3b, có chức năng gây ra sự bám dính bạch cầu vào nội mạc mạch máu và tạo ra xytokin IL-1 gây viêm thông qua liên kết với thụ thể integrin trên bề mặt tế bào của nó. C5b-9 cũng gián tiếp kích thích sự bám dính, hoạt hóa và điều hòa hóa học của bạch cầu bằng cách gây ra sự biểu hiện của phân tử bám dính tế bào như E-selectin, và gây tiết interleukin-8 (Bhole *et al.* (2003) *Crit Care Med* 31(1):97-104). C5b-9 cũng kích thích giải phóng chất trung gian thứ cấp góp phần gây viêm, như prostaglandin E_2, leukotrien B_4 và thromboxan.

Việc chuyển đổi thành phần bổ thể của người C3 và C5 để tạo ra sản phẩm anaphylatoxin tương ứng của chúng có liên quan đến một số trạng thái bệnh lý xảy ra tự nhiên bao gồm: rối loạn tự miễn dịch như lupus ban đỏ hệ thống, viêm khớp dạng thấp, bệnh ác tính, nhồi máu cơ tim, bệnh võng mạc Purtscher, nhiễm trùng huyết và hội chứng suy hô hấp ở người lớn. Mức độ tuần hoàn của C3a và C5a tăng lên đã được phát hiện trong một số điều kiện liên quan đến hoạt hóa bổ thể gây sắt như: phẫu thuật bắc cầu tim phổi, thẩm tách thận và tế bào bạch cầu bằng sợi nylon.

iii. Chemotaxis

Chemotaxis là quá trình mà tế bào được hướng di chuyển để đáp ứng với hóa chất trong môi trường của chúng. Trong phản ứng miễn dịch, một loạt các chemokine hướng sự di chuyển của các tế bào, như tế bào thực bào, đến các vị trí nhiễm trùng. Ví dụ, C5a là yếu tố phản ứng hóa học chính đối với bạch cầu trung tính lưu thông, nhưng cũng có thể gây ra phản ứng hóa học của bạch cầu đơn nhân. Thực bào di chuyển theo hướng tăng nồng độ C5a và sau đó, thông qua các thụ thể CR1 của chúng, gắn vào các phân tử C3b được gắn vào kháng nguyên. Hiệu ứng hóa học của C5a, được quan sát thấy với basophils, bạch cầu ái toan, bạch cầu trung tính và thực bào đơn nhân, hoạt

động ở nồng độ thấp là 10^{-10} M.

iv. Opsonin hóa

Hoạt động quan trọng của bổ thể là tạo điều kiện cho tế bào thực bào hấp thu và tiêu diệt mầm bệnh. Điều này xảy ra bởi một quá trình được gọi là quá trình quang hóa, theo đó các thành phần bổ gen liên kết với vi khuẩn đích tương tác với các thụ thể bổ thể trên bề mặt của tế bào thực bào như bạch cầu trung tính hoặc đại thực bào. Trong trường hợp này, các phân tử hiệu ứng bổ thể được gọi là opsonin. Tiêm chủng mầm bệnh là một chức năng chính của C3b và C4b. iC3b cũng hoạt động như một opsonin. C3a và C5a làm tăng sự biểu hiện của thụ thể C3b trên tế bào thực bào và tăng hoạt tính trao đổi chất của chúng.

C3b và, ở mức độ thấp hơn, C4b giúp loại bỏ phức hợp miễn dịch có hại khỏi cơ thể. C3b và C4b gắn phức hợp miễn dịch với thụ thể CR1 trên hồng cầu. Sau đó, hồng cầu phân phối phức hợp đến đại thực bào cố định trong lá lách và gan để phá hủy. Phức hợp miễn dịch có thể dẫn đến quá mẫn loại III có hại.

v. Hoạt hóa đáp ứng miễn dịch dịch thể

Hoạt hóa tế bào B yêu cầu thắt chặt thụ thể tế bào B (BCR) bằng kháng nguyên. Tuy nhiên, được thể hiện rằng bổ thể đóng vai trò hạ ngưỡng đáp ứng của tế bào B với kháng nguyên lên đến 1000 lần. Điều này xảy ra bởi sự gắn kết của C3d hoặc C3dg, các sản phẩm bổ sung được tạo ra từ các đoạn phân hủy của C3, với các thụ thể CR2 trên tế bào lympho B có thể đồng quan hệ với BCR. Sự co thắt xảy ra khi các phần tử kháng nguyên, như phức hợp miễn dịch, được opso hóa với C3d liên kết với thụ thể CR2 thông qua C3d cũng như BCR thông qua kháng nguyên. Sự co thắt của phức hợp kháng nguyên cũng có thể xảy ra khi C3d liên kết với kháng nguyên tăng cường sự hấp thu của chúng bởi các tế bào trình diện kháng nguyên, như tế bào đuôi gai, sau đó có thể trình bày kháng nguyên với tế bào B để tăng cường phản ứng kháng thể. Chuột thiếu các khiếm khuyết hiển thị CR2 trong chức năng tế bào B dẫn đến giảm mức độ kháng thể tự nhiên và suy giảm phản ứng miễn dịch dịch thể.

2. Cấu trúc và chức năng C3

Polypeptit u-PA biến thể được đề xuất trong bản mô tả này phân cắt protein bổ thể C3 hoặc các đoạn phân giải protein của nó do đó ức chế bổ thể. Protein bổ thể của

người C3 (Uniprot Accession No. P01024) là tiền proprotein chuỗi đơn 1663 axit amin có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 47. Protein được mã hóa bởi gen 41 kb nằm trên nhiễm sắc thể số 19 (trình tự nucleotit được quy định trong SEQ ID NO: 46). Tiền proprotein chứa một peptit tín hiệu axit amin 22 (axit amin 1-22 của SEQ ID NO: 47) và trình tự tetra-arginine (axit amin 678-681 của SEQ ID NO: 47) được loại bỏ bởi một furin- giống như enzyme dẫn đến sự hình thành protein hai chuỗi trưởng thành chứa chuỗi beta (axit amin 23-667 của SEQ ID NO: 47) và chuỗi alpha (axit amin 672-1663 của SEQ ID NO: 47), được liên kết bởi một liên kết disulfide liên chuỗi giữa các gốc axit amin Cys559 và Cys816. Protein chuỗi 2 trưởng thành có trình tự các axit amin được quy định trong SEQ ID NO:77.

Trong tầng bổ thể, protein bổ thể C3 còn được xử lý bằng cách phân cắt phân giải protein để tạo thành nhiều mảnh phân giải protein C3. Như được mô tả ở trên, tất cả ba con đường bắt đầu bổ thể hội tụ trên convertaza C3 C4b2b và C3bBb. Convertaza C3 phân cắt C3 giữa các gốc 748 và 749 của SEQ ID NO:47 (xem bảng 10 bên dưới) tạo ra anaphylatoxin C3a (axit amin 672-748 của SEQ ID NO:47) và opsonin C3b (chuỗi C3b alpha; axit amin 749-1663 của SEQ ID NO:47). C3a tham gia vào quá trình viêm và C3b tạo thành convertaza C5 cuối cùng dẫn đến anaphylatoxin C5a và MAC. Polypeptit u-PA biến thể được đề xuất trong bản mô tả này ức chế bổ thể, và do đó, không phân cắt C3 tại vị trí phân cắt GLAR này.

C3b có vị trí liên kết với các thành phần bổ thể khác nhau bao gồm C5, properdin (P), yếu tố H, B và I, thụ thể bổ thể 1 (CR1) và protein đồng yếu tố màng (MCP) (xem Sahu và Lambris (2001) *Immunological Reviews* 180:35-48). Sự liên kết của yếu tố I, một proteaza huyết tương, với sự hiện diện của các đồng yếu tố H, CR1 và MCP dẫn đến bất hoạt C3b trong khi liên kết của các yếu tố B và P với sự hiện diện của yếu tố D dẫn đến sự khuếch đại của C3 convertase và khởi động MAC. Yếu tố I phân cắt C3b với sự có mặt của đồng yếu tố giữa các gốc 1303-1304, 1320-1321 và 954-955 của SEQ ID NO: 47 (xem Bảng 10 bên dưới) tạo ra các đoạn iC3b (axit amin 749-1303 của SEQ ID NO: 47) và C3f (axit amin 1304-1320 của SEQ ID NO: 47). Yếu tố I sau đó phân cắt iC3b tạo ra C3c (Phân đoạn chuỗi C3c alpha '1; axit amin 749-954 của SEQ ID NO: 47) và C3dg (axit amin 955-1303 của SEQ ID NO: 47). Kết quả cuối cùng là C3b bị bất hoạt vĩnh viễn (xem Sahu và Lambris (2001) *Immunological Reviews* 180:35-48). Vì Yếu tố I làm bất hoạt C3b, nên các vị trí phân cắt của Yếu tố I là ứng cử viên cho sự

phân cắt bởi polypeptit u-PA biến thể được đề xuất trong bản mô tả này. Các đoạn phân giải protein C3b bổ sung bao gồm C3g (axit amin 955-1001 của SEQ ID NO: 47), C3d (axit amin 1002-1303 của SEQ ID NO: 47) và chuỗi C3c alpha 'Đoạn 2 (axit amin 1321-1663 của SEQ SỐ ID: 47). Trình tự phân cắt trong protein bổ thể C3 được trình bày trong Bảng 10 dưới đây, liệt kê các gốc P4-P1, các gốc axit amin của vị trí phân cắt (vị trí P1-P1 ') và proteaza chịu trách nhiệm cho sự phân cắt. Các polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này không phân cắt ở các vị trí này.

Bảng 10: Trình tự phân cắt protein bổ thể C3

Gốc P4-P1	Vị trí phân cắt (trong SEQ ID NO:47) giữa các gốc	Proteaza	SEQ ID NO.
GLAR	748-749	Convertaza C3	78
RLGR	954-955	Yếu tố I	79
LPSR	1303-1304	Yếu tố I	80
SLLR	1320-1321	Yếu tố I	81

a. C3a

C3a (axit amin 672-748 của SEQ ID NO:47) là anaphylatoxin có liên quan đến quá trình viêm, sự suy giảm basophil và tế bào mast, tăng cường tính thấm thành mạch, co cơ trơn và cảm ứng tế bào T ức chế.

b. C3b

C3b (axit amin 749-1663 của SEQ ID NO:47) có các vai trò khác nhau trong tầng bổ thể. C3b là một opsonin tạo điều kiện cho các tế bào thực bào hấp thu và tiêu diệt mầm bệnh. Ngoài ra, C3b kết hợp với các chuyển đổi C3 để tạo ra các chuyển đổi C5 hoạt hóa protein bổ thể C5 do đó tạo ra anaphylatoxin C5a và C5b, kết hợp với C6, C7, C8 và C9 để tạo thành phức hợp tấn công màng. Hơn nữa, như được mô tả trong phần 1b ở trên, C3b tham gia vào con đường khởi đầu bổ thể thay thế. C3b được điều hòa bởi protein điều hòa bổ thể Yếu tố I, một proteaza huyết tương phân hủy C3b thành các đoạn khác nhau, bao gồm iC3b, C3c, C3d, C3f và C3dg, do đó bất hoạt vĩnh viễn C3b.

C3b đóng vai trò quan trọng trong các chức năng tác động qua trung gian bổ thể nhờ khả năng liên kết với các chuyển đổi C3 C4b2b và C3bBb do đó tạo ra các chuyển đổi C5 C4b2b3b và C3bBb3b. Các chuyển đổi C5 phân cắt tiền enzym C5 thành các đoạn hoạt động của nó, cụ thể là anaphylatoxin C5a và C5b. C5a tham gia vào quá trình hóa học và phản ứng viêm và C5b tham gia vào quá trình hình thành MAC.

c. Chất ức chế của C3b

C3b có vị trí liên kết cho nhiều thành phần bổ thể bao gồm C5, properdin (P), yếu tố H, B và I, thụ thể bổ thể 1 (CR1) và protein đồng yếu tố màng (MCP) (xem Sahu và Lambris (2001) *Immunological Reviews* 180:35-48). Sự liên kết của yếu tố I, proteaza huyết tương, khi có mặt đồng yếu tố H, CR1 và MCP dẫn đến bất hoạt C3b trong khi liên kết của yếu tố B và P khi có mặt yếu tố D dẫn đến sự khuếch đại của convertaza C3 và khởi đầu MAC. Yếu tố I phân cắt C3b khi có mặt của đồng yếu tố giữa các gốc 1303-1304, 1320-1321 và 954-955 của SEQ ID NO:47 tạo ra mảnh iC3b (axit amin 749-1303 của SEQ ID NO:47) và C3f (axit amin 1304-1320 trong số SEQ ID NO:47). Mặc dù về mặt kỹ thuật không được coi là anaphylatoxin, iC3b, dẫn xuất bất hoạt của C3b, có chức năng gây ra sự bám dính bạch cầu vào nội mạc mạch máu và tạo ra sự sản xuất xytokin IL-1 gây viêm thông qua liên kết với thụ thể integrin trên bề mặt tế bào của nó. Protein iC3b có chức năng như opsonin. Yếu tố I sau đó phân cắt iC3b tạo ra mảnh C3c (chuỗi C3c alpha' mảnh 1: axit amin 749-954 của chuỗi SEQ ID NO:47 và chuỗi C3c alpha' mảnh 2: axit amin 1321-1663 của SEQ ID NO:47) và C3dg (axit amin 955-1303 của SEQ ID NO:47). Kết quả cuối cùng là C3b bất hoạt vĩnh viễn (xem Sahu và Lambris (2001) *Immunological Reviews* 180:35-48). C3dg còn có thể được phân cắt để tạo ra mảnh C3g (axit amin 955-1001 của SEQ ID NO: 47) và C3d (axit amin 1002-1303 của SEQ ID NO:47).

D. Polypeptit u-PA biến đổi mà phân cắt C3

Sáng chế đề xuất polypeptit hoạt hóa plasminogen loại urokinaza (u-PA) biến đổi hoặc biến thể. Sáng chế cũng đề xuất thể liên hợp, như protein dung hợp, chứa polypeptit u-PA biến đổi, sao cho dạng hoạt hóa thu được của nó phân cắt C3. Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có hoạt tính hoặc tính chất thay đổi so với polypeptit u-PA kiểu dại, tự nhiên hoặc tham chiếu. Ví dụ, polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này chứa biến đổi so với polypeptit u-PA kiểu dại, tự nhiên hoặc tham

chiếu được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO:1-6, hoặc trong polypeptit mà có độ tương đồng trình tự ít nhất là 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%, cụ thể ít nhất là 95% với bất kỳ trong số các SEQ ID NO:1-6, như miền proteaza u-PA tham chiếu được nêu trong SEQ ID NO:5. Được bao gồm trong số polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này là polypeptit u-PA mà thay đổi (ức chế) hoạt hóa bổ thể bằng cách tác động lên sự phân cắt ức chế của protein bổ thể C3. Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này tác động lên sự phân cắt ức chế của protein bổ thể C3. Được bao gồm là tác động lên sự phân cắt ức chế của C3 có hoạt tính hoặc độ đặc hiệu, K_{cat}/K_m, lớn hơn so với dạng tương ứng của u-PA mà không chứa biến đổi (thay thế, bỏ và/hoặc chèn) hoặc so với dạng tương ứng của u-PA không được biến đổi mà trình tự của nó được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO:1-6. Polypeptit u-PA biến đổi cũng có thể giảm độ đặc hiệu và/hoặc tính chọn lọc đối với cơ chất và đích được phân cắt hoặc nhận biết bởi u-PA không biến đổi, bao gồm sự phân cắt plasminogen và/hoặc liên kết với uPAR, so với polypeptit u-PA tương ứng không chứa (các) biến đổi axit amin.

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này ức chế hoặc làm bất hoạt bổ thể qua việc ức chế hoặc phân cắt làm bất hoạt của protein bổ thể C3. Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này ức chế hoặc làm bất hoạt bổ thể bằng cách phân cắt protein bổ thể C3 tại vị trí phân cắt dẫn đến ức chế hoặc bất hoạt C3. Sự phân cắt bất hoạt hoặc ức chế của protein bổ thể C3 có thể ở bất kỳ trình tự nào trong C3, miễn là sự phân cắt kết quả của C3 dẫn đến bất hoạt hoặc ức chế sự hoạt hóa của bổ thể. Vì polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này ức chế sự hoạt hóa bổ thể, nên polypeptit u-PA được sửa đổi không ảnh hưởng đến sự phân cắt dạng tiền enzym của C3 để tạo ra các đoạn C3a và C3b được hoạt hóa. Do đó, polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này không phân cắt C3 giữa các gốc 748-749 của SEQ ID NO: 47, điều này sẽ dẫn đến việc tạo ra C3a và C3b. Các vị trí phân cắt ức chế hoặc bất hoạt của protein bổ thể C3 có thể được xác định hoặc xác định theo kinh nghiệm. Nếu cần, polypeptit u-PA biến đổi có thể được kiểm tra khả năng ức chế bổ thể như được mô tả trong phần E dưới đây và như được minh họa trong các Ví dụ.

Các polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này xúc tác sự phân cắt ức chế hoặc bất hoạt của protein bổ thể C3. Các polypeptit u-PA được sửa đổi được cung cấp trong bản mô tả này phân cắt protein bổ thể C3 ở bất kỳ trình tự phân cắt nào

miễn là các đoạn C3 tạo thành không hoạt động hoặc không thể hoạt hóa chức năng tác động qua trung gian bổ thể. Các polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này đã làm thay đổi (tức là giảm) độ đặc hiệu và/hoặc độ chọn lọc đối với các đích tự nhiên của u-PA, bao gồm cả plasminogen và uPAR. Trong một ví dụ, polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này đã làm giảm độ đặc hiệu để phân cắt plasminogen. Trong một ví dụ khác, polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này đã làm giảm tính chọn lọc để liên kết với uPAR. Trong một số ví dụ, polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này đã làm giảm độ đặc hiệu để phân cắt plasminogen và giảm tính chọn lọc để liên kết với uPAR. Trong các ví dụ khác, polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này đã làm tăng độ đặc hiệu để phân cắt protein bổ thể C3 và giảm độ đặc hiệu để phân cắt plasminogen. Trong các ví dụ khác, polypeptit u-PA được sửa đổi được cung cấp trong bản mô tả này đã làm tăng tính chọn lọc đối với protein bổ thể C3 và giảm tính chọn lọc đối với plasminogen và/hoặc uPAR.

Ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này và được mô tả trong phần ví dụ được phân lập miền proteaza của u-PA. Phần nhỏ hơn của nó mà giữ hoạt tính proteaza cũng được dự liệu. Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này là đột biến của miền proteaza của u-PA, cụ thể là polypeptit u-PA được biến đổi trong đó gốc Cys trong miền proteaza tự do (tức là không tạo liên kết disulfua với gốc Cys khác bất kỳ trong protein) được thế bằng thế axit amin khác, tốt hơn là thế axit amin bảo toàn hoặc thế không loại bỏ hoạt tính, như thế bằng serin và polypeptit u-PA biến đổi trong đó (các) vị trí glycosyl hóa bị loại bỏ. Polypeptit u-PA biến đổi trong đó các thế axit amin bảo toàn khác trong đó hoạt tính xúc tác được giữ cũng được dự tính (xem ví dụ, bảng 3, về thế axit amin làm ví dụ).

Các polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này chứa một hoặc nhiều biến đổi axit amin sao cho chúng phân cắt protein bổ thể C3 theo cách dẫn đến bất hoạt hoặc ức chế bổ thể. Các sửa đổi có thể là một sửa đổi axit amin đơn lẻ, như thay thế axit amin đơn lẻ (thay thế), chèn hoặc xóa hoặc sửa đổi nhiều axit amin, như thay thế nhiều axit amin, thêm hoặc bớt. Các biến đổi ví dụ là các thay thế axit amin, bao gồm thay thế một hoặc nhiều axit amin. Sự thay thế axit amin có thể là sự thay thế bảo toàn, như được nêu trong Bảng 3, hoặc sự thay thế không bảo toàn, như bất kỳ chất nào được mô tả trong bản mô tả này. Polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong

bản mô tả này có thể chứa ít nhất hoặc 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, hoặc nhiều vị trí được sửa đổi hơn so với polypeptit u-PA thì không chứa biến đổi.

Biến đổi được mô tả trong bản mô tả này có thể được tạo ra ở polypeptit u-PA bất kỳ. Ví dụ, biến đổi được tạo ra ở polypeptit u-PA của người có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO:6, hoặc biến thể alen của chúng; polypeptit u-PA của chuột có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:52 hoặc 66; polypeptit u-PA của chuột cống có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:53 hoặc 67; polypeptit u-PA của bò có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:54 hoặc 68; polypeptit u-PA của lợn có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:55 hoặc 69; polypeptit u-PA của thỏ có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:56 hoặc 70; polypeptit u-PA của gà có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:57 hoặc 71; polypeptit u-PA của khỉ đầu chó màu vàng có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:58 hoặc 72; polypeptit u-PA của đười ươi Sumatra có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:59 hoặc 73; polypeptit u-PA của chó có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:60 hoặc 74; polypeptit u-PA của cừu có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:61 hoặc 75; polypeptit u-PA của khỉ đuôi sóc có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:62; polypeptit u-PA của khỉ rhesus có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:63; polypeptit u-PA của vượn đen má trắng phía bắc có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:64; và polypeptit u-PA của tinh tinh có trình tự axit amin bao gồm hoặc được nêu trong SEQ ID NO:65; hoặc trong biến thể trình tự hoặc mảnh có hoạt tính xúc tác có độ tương đồng trình tự ít nhất là 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc nhiều hơn cho bất kỳ trong số các SEQ ID NO:1-6 và 52-75.

Polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sửa đổi ở bất kỳ vùng hoặc miền nào của polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này, miễn là polypeptit u-PA được sửa đổi vẫn giữ được khả năng gây hiệu ứng bất hoạt hoặc ức chế phân cắt protein bổ thể C3. Các polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể là polypeptit chuỗi đơn hoặc hai chuỗi, các biến thể loài, các biến

thể alen, đồng dạng hoặc các đoạn có hoạt tính xúc tác của chúng, như miền proteaza của chúng. Polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này có thể có chiều dài đầy đủ hoặc polypeptit u-PA bị cắt ngắn. Các polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể là vùng proteaza của u-PA hoặc dạng biến đổi của vùng proteaza của u-PA. Cũng được dự kiến để sử dụng trong bản mô tả này là tiền enzym, tiền chất hoặc dạng trưởng thành của polypeptit u-PA được biến đổi, miễn là polypeptit u-PA vẫn giữ được khả năng gây hiệu ứng phân cắt ức chế hoặc bất hoạt của protein bổ thể C3. Các sửa đổi trong polypeptit u-PA cũng có thể được thực hiện đối với polypeptit u-PA cũng chứa các sửa đổi khác, bao gồm các sửa đổi của trình tự chính và các sửa đổi không có trong trình tự chính của polypeptit. Ví dụ, biến đổi được mô tả trong bản mô tả này có thể ở polypeptit u-PA là polypeptit dung hợp hoặc polypeptit thể khảm. Các polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này cũng bao gồm các polypeptit được liên hợp với polyme, như chất phản ứng PEG.

Đối với mục đích trong bản mô tả này, tham chiếu đến vị trí và axit amin để biến đổi, bao gồm thay thế hoặc các thay thế axit amin, trong bản mô tả này là có tham chiếu đến polypeptit u-PA được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO:1-6. Nằm trong mức độ của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực để thực hiện bất kỳ trong số các biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này ở polypeptit u-PA khác bằng cách xác định gốc axit amin tương ứng trong polypeptit u-PA khác, như polypeptit u-PA được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO:1-6 hoặc biến thể của chúng thể hiện độ tương đồng trình tự ít nhất là 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc nhiều hơn với polypeptit u-PA được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO:1-6. Vị trí tương ứng trong polypeptit u-PA khác có thể được xác định bằng cách căn chỉnh polypeptit u-PA với tham chiếu là polypeptit u-PA được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO:1-6. Đối với mục đích biến đổi (ví dụ, thay thế axit amin), gốc axit amin tương ứng có thể là gốc axit amin bất kỳ và không cần phải tương đồng với gốc được nêu trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO:1-6. Thông thường, gốc axit amin tương ứng được xác định bằng cách căn chỉnh, ví dụ, gốc trong SEQ ID NO:5 là gốc axit amin tương đồng với SEQ ID NO:5, hoặc là gốc axit amin bảo toàn hoặc bán bảo toàn của nó. Cũng cần hiểu rằng thay thế làm ví dụ được đề xuất trong bản mô tả này có thể được tạo ra ở gốc tương ứng trong polypeptit u-PA, như miền proteaza của u-PA, miễn là thay thế khác với tồn tại ở dạng không biến đổi của polypeptit

u-PA, như miền proteaza của u-PA. Dựa trên mô tả này và mô tả ở nơi khác trong bản mô tả này, việc tạo ra polypeptit u-PA biến đổi chứa một hoặc nhiều đột biến được mô tả bất kỳ ở mức độ của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và thử nghiệm đối với tính chất hoặc hoạt tính như được mô tả trong bản mô tả này.

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này thay đổi hoạt tính của bổ thể bằng cách ức chế hoặc bất hoạt qua trung gian phân giải protein của protein bổ thể C3. Hơn nữa, polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này giảm độ đặc hiệu để phân cắt plasminogen và/hoặc liên kết với uPAR. Ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này thể hiện dưới 100% hoạt tính kiểu dại của polypeptit u-PA để phân cắt plasminogen, như hoạt tính ít hơn 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% hoặc ít hơn để phân cắt plasminogen của kiểu dại hoặc polypeptit u-PA đối chứng, như polypeptit tương ứng không chứa biến đổi axit amin. Trong ví dụ khác, polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này thể hiện ít hơn 100% hoạt tính liên kết kiểu dại của polypeptit u-PA đối với uPAR, như ít hơn 90%, 80%, 70%, 60%, 50%., 40%, 30%, 20%, 10% hoặc ít hơn hoạt tính để liên kết với uPAR của polypeptit u-PA kiểu dại hoặc đối chứng, như polypeptit tương ứng không chứa biến đổi axit amin.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mà mã hóa bất kỳ trong số các polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này. Theo một số ví dụ, phân tử axit nucleic mã hóa cũng có thể được biến đổi để chứa trình tự tín hiệu dị hợp để thay đổi (ví dụ tăng) biểu hiện và tiết polypeptit. Polypeptit u-PA biến đổi và mã hóa phân tử axit nucleic được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sản xuất hoặc phân lập bằng bất kỳ phương pháp nào đã biết trong lĩnh vực này bao gồm phân lập từ các nguồn tự nhiên, phân lập các protein được tái tổ hợp trong tế bào, mô và sinh vật, và bằng các phương pháp tái tổ hợp và bằng các phương pháp bao gồm các bước silico, phương pháp tổng hợp và bất kỳ phương pháp nào được biết đến với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các polypeptit biến đổi và mã hóa các phân tử axit nucleic được đề xuất trong bản mô tả này có thể được tạo ra bằng kỹ thuật ADN tái tổ hợp tiêu chuẩn được biết đến là một trong những hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Có thể sử dụng bất kỳ phương pháp nào được biết đến trong lĩnh vực này để gây đột biến một hoặc nhiều axit amin trong protein đích. Các phương pháp bao gồm phương pháp gây đột biến ngẫu nhiên hoặc định hướng vị trí tiêu chuẩn mã hóa phân tử axit nucleic, hoặc

phương pháp tổng hợp polypeptit pha rắn. Ví dụ, các phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA có thể bị đột biến, như đột biến ngẫu nhiên của axit nucleic mã hóa, PCR dễ bị lỗi, đột biến hướng vào vị trí, PCR chồng chéo, xáo trộn gen hoặc các phương pháp tái tổ hợp khác. Sau đó, axit nucleic mã hóa polypeptit có thể được đưa vào tế bào chủ để được biểu hiện một cách dị hợp. Do đó, cũng được đề xuất trong bản mô tả này là các phân tử axit nucleic mã hóa bất kỳ polypeptit nào đã biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này. Trong một số ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi được sản xuất tổng hợp, như sử dụng tổng hợp peptit pha rắn hoặc pha dung dịch. Các phân tử axit nucleic có thể được cung cấp trong các vectơ liệu pháp gen, như vectơ AAV hoặc adenovirus, để biểu hiện polypeptit u-PA được sửa đổi được mã hóa *in vivo*, như trong mắt hoặc để sử dụng toàn thân. Polypeptit u-PA được mã hóa có thể là polypeptit có chiều dài đầy đủ hoặc miền proteaza hoặc dạng khác đang hoạt động hoặc có thể được hoạt hóa.

Polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này được biến đổi để tăng độ đặc hiệu và/hoặc độ chọn lọc để phân cắt trình tự phân cắt ức chế hoặc bất hoạt của protein bổ thể C3. Polypeptit u-PA có thể được biến đổi bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật để biến đổi protein. Phương pháp này bao gồm gây đột biến theo vị trí và ngẫu nhiên. Thử nghiệm như thử nghiệm đối với chức năng sinh học của sự hoạt hóa bổ thể được đề xuất trong bản mô tả này và đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng để đánh giá chức năng sinh học của polypeptit u-PA biến đổi để xác định xem liệu polypeptit u-PA biến đổi có nhắm đích protein bổ thể C3 để phân cắt và làm bất hoạt. Phương pháp làm ví dụ để xác định polypeptit u-PA và polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này.

1. Polypeptit u-PA biến đổi làm ví dụ

Sáng chế đề xuất polypeptit u-PA biến đổi mà chứa một hoặc nhiều, bao gồm 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 và nhiều biến đổi axit amin trong polypeptit u-PA và phân cắt protein bổ thể C3 sao cho bổ thể được ức chế hoặc được làm bất hoạt. Biến đổi là trình tự axit amin sơ cấp, và bao gồm các thay thế, bỏ đoạn và chèn đoạn của gốc axit amin. Biến đổi thay đổi độ đặc hiệu/hoạt tính của polypeptit u-PA, khi ở dạng hoạt hóa. Polypeptit u-PA biến đổi trong bản mô tả này được chọn để nhận ra và phân cắt vị trí đích trong protein bổ thể, đặc biệt là C3 để làm bất hoạt nó. Chúng cũng có thể được sửa đổi và sàng lọc thêm để giảm độ đặc hiệu/hoạt tính trên cơ chất *in vivo*, như plasminogen. Chúng có thể được lựa chọn và xác định bằng bất kỳ phương pháp sàng

lọc proteaza thích hợp nào. Các polypeptit u-PA được sửa đổi trong bản mô tả này ban đầu được xác định bằng cách sử dụng phương pháp sàng lọc được mô tả trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 8,211,428, trong đó một thư viện các proteaza biến đổi được phản ứng với cognate hoặc serpin ức chế khác được sửa đổi để bao gồm trình tự đích trong vị trí phản ứng vòng lặp để bắt các proteaza đã được sửa đổi có thể phân cắt đích như vậy.

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này thể hiện hoạt tính hoặc độ đặc hiệu hoặc K_{cat}/K_m tăng đối với protein bổ thể C3 tại vị trí làm bất hoạt C3, và cũng có thể làm giảm hoạt tính hoặc độ đặc hiệu đối với plasminogen và/hoặc hiển thị tính chọn lọc tăng, độ đặc hiệu và/hoặc hoạt tính cho protein bổ thể vị trí đích C3, theo đó polypeptit u-PA biến đổi làm bất hoạt C3. Polypeptit u-PA biến đổi thể hiện hoạt tính phân cắt và bất hoạt C3 tăng lên so với dạng tương ứng của kiểu dại hoặc kiểu dại với thay thế C122S (bằng cách đánh số chymotrypsin). Cụ thể là, miền proteaza của polypeptit u-PA biến đổi thể hiện hoạt tính phân cắt bất hoạt của C3 tăng so với miền u-PA proteaza của SEQ ID NO:5 (miền u-PA proteaza với C122S). Mức tăng hoạt tính có thể là 10%, 20%, 50%, 100%, 1 lần, 2 lần, 3 lần, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 lần và nhiều hơn so với u-PA không được biến đổi.

Polypeptit u-PA biến đổi có thể giảm hoạt tính đối với cơ chất tự nhiên, như plasminogen. Ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi có thể biểu hiện từ 0 đến 99% hoạt tính u-PA của polypeptit u-PA kiểu dại hoặc tham chiếu, như polypeptit u-PA được nêu trong SEQ ID NO:5, đối với plasminogen và ít nhất 0,5 lần, 1 lần, 2 lần, 3 lần hoặc nhiều hơn để phân cắt C3 để làm bất hoạt nó. Ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này thể hiện ít hơn hoặc thấp hơn khoảng 99%, 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% hoặc ít hoạt tính u-PA của polypeptit u-PA kiểu dại hoặc polypeptit u-PA tham chiếu, như polypeptit tương ứng không chứa biến đổi axit amin (ví dụ thay thế axit amin), ví dụ, miền u-PA proteaza được nêu trong SEQ ID SỐ 5.

Ví dụ, các vị trí mẫu có thể được sửa đổi, ví dụ bằng cách thay thế hoặc thay thế axit amin, bao gồm nhưng không giới hạn ở bất kỳ vị trí nào tương ứng với vị trí 173, 178, 179, 180, 181, 185, 186, 187, 188, 208, 209, 249, 250, 252, 306, 314 hoặc 353 liên quan đến trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3 (tương ứng với các vị trí 30, 35, 36, 37, 37a, 38, 39, 40, 41, 60a, 60b, 97a, 97b, 99, 149, 157 hoặc 192 theo cách đánh số chymotrypsin). Ví dụ, các vị trí axit amin có thể được thay thế ở các vị trí tương ứng với sự thay thế của phenylalanin (F) ở một hoặc nhiều vị trí 173, R178, R179, H180,

R181, V185, T186, Y187, V188, D208, Y209, T249, L250, H252, Y306, M314 hoặc Q353 với tham chiếu đến các vị trí axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3 (tương ứng với F30, R35, R36, H37, R37a, V38, T39, Y40, V41, D60a, Y60b, T97a, L97b, H99, Y149, M157 và Q192, tương ứng theo cách đánh số chymotrypsin).

Thay thế axit amin làm ví dụ ở bất kỳ trong số các vị trí ở trên được nêu trong bảng 11. Tham chiếu đến vị trí tương ứng trong bảng 11 là tham chiếu đến vị trí được nêu trong SEQ ID NO:3. (xem thêm phần ví dụ bên dưới). Cần được hiểu rằng thay thế có thể được thực hiện ở vị trí tương ứng trong polypeptit u-PA khác bằng cách căn chỉnh với trình tự được nêu trong SEQ ID NO:3, theo đó vị trí tương ứng là vị trí được căn chỉnh. Ví dụ, thay thế có thể được thực hiện trong miền u-PA proteaza với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 2 hoặc miền u-PA proteaza tham chiếu với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 5. Trong một số ví dụ, (các) thay thế axit amin có thể ở vị trí tương ứng trong polypeptit u-PA như được nêu trong SEQ ID NO: 5 hoặc biến thể của chúng có độ tương đồng trình tự ít nhất là hoặc ít nhất khoảng 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 86%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, cụ thể là 95%, hoặc nhiều hơn, miễn là polypeptit u-PA biến đổi thu được thể hiện độ đặc hiệu bị thay đổi (tức là được nâng cao) đối với protein bổ thể C3 so với hoạt tính u-PA đối với plasminogen và/hoặc độ chọn lọc thay đổi đối với protein bổ thể C3. Trong một ví dụ, bất kỳ một hoặc nhiều thay thế nằm trong bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 1-6, miễn là polypeptit u-PA biến đổi tạo thành thể hiện độ đặc hiệu thay đổi (tức là được nâng cao) đối với protein bổ thể C3 so với hoạt tính u-PA đối với plasminogen và/hoặc độ chọn lọc thay đổi đối với protein bổ thể C3.

Bảng 11. Đột biến làm ví dụ mà dẫn đến hoạt tính tăng để phân cắt C3

Vị trí tương ứng (trong SEQ ID NO:3)	Vị trí tương ứng (đánh số chymotrypsin)	Thay thế
173	30	Y
178	35	W Y Q
179	36	H
180	37	E P D N G K Y
181	37a	Q P E N S

185	38	D E
186	39	W Y F
187	40	H F Q
188	41	R L
208	60a	P T
209	60b	Q H S A T L
249	97a	E I
250	97b	A G
252	99	Q
279	122	S
306	149	K R
314	157	K
353	192	H

Ví dụ của biến đổi axit amin ở polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, thay thế với tyrosin (Y) ở vị trí tương ứng với vị trí 173 (30 bằng cách đánh số chymotrypsin); W ở vị trí tương ứng với vị trí 178 (35 bằng cách đánh số chymotrypsin); Y tại vị trí tương ứng với vị trí 178; Q tại vị trí tương ứng với vị trí 178; H ở vị trí tương ứng với vị trí 179 (36 bằng cách đánh số chymotrypsin); E ở vị trí tương ứng với vị trí 180 (37 bằng cách đánh số chymotrypsin); P ở vị trí tương ứng với vị trí 180; D ở vị trí tương ứng với vị trí 180; N ở vị trí tương ứng với vị trí 180; G ở vị trí tương ứng với vị trí 180; K ở vị trí tương ứng với vị trí 180; Y ở vị trí tương ứng với vị trí 180; Q ở vị trí tương ứng với vị trí 181 (37a bằng cách đánh số chymotrypsin); P tại vị trí tương ứng với vị trí 181; E ở vị trí tương ứng với vị trí 181; N tại vị trí tương ứng với vị trí 181; S ở vị trí tương ứng với vị trí 181; D ở vị trí tương ứng với vị trí 185 (38 bằng cách đánh số chymotrypsin); E ở vị trí tương ứng với vị trí 185; W ở vị trí tương ứng với vị trí 186 (39 bằng cách đánh số chymotrypsin); Y ở vị trí tương ứng với vị trí 186; F ở vị trí tương ứng với vị trí 186; H ở vị trí tương ứng với vị trí 187 (40 bằng cách đánh số chymotrypsin); F ở vị trí tương ứng với vị trí 187; Q ở vị trí tương ứng với vị trí 187; R ở vị trí tương ứng với vị trí 188 (41 bằng cách đánh

số chymotrypsin); L ở vị trí tương ứng với vị trí 188; P ở vị trí tương ứng với vị trí 208; T ở vị trí tương ứng với vị trí 208 (60a bằng cách đánh số chymotrypsin); Q ở vị trí tương ứng với vị trí 209 (60b bằng cách đánh số chymotrypsin); H ở vị trí tương ứng với vị trí 209; S ở vị trí tương ứng với vị trí 209; A ở vị trí tương ứng với vị trí 209; T ở vị trí tương ứng với vị trí 209; L ở một vị trí tương ứng với vị trí 209; E ở vị trí tương ứng với vị trí 249 (97a bằng cách đánh số chymotrypsin); I ở vị trí tương ứng với vị trí 249; A ở vị trí tương ứng với vị trí 250 (97b bằng cách đánh số chymotrypsin); G ở vị trí tương ứng với vị trí 250; Q ở vị trí tương ứng với vị trí 252 (99 bằng cách đánh số chymotrypsin); K ở vị trí tương ứng với vị trí 306 (149 bằng cách đánh số chymotrypsin); R tại vị trí tương ứng với vị trí 306; K ở vị trí tương ứng với vị trí 314 (157 bằng cách đánh số chymotrypsin); hoặc H ở vị trí tương ứng với vị trí 353 (192 bằng cách đánh số chymotrypsin); mỗi liên quan đến vị trí axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3. S ở vị trí tương ứng với vị trí 279 (122S) bằng cách đánh số chymotrypsin) thay thế một Cys tự do để giảm xu hướng kết tụ.

Polypeptit u-PA biến đổi làm ví dụ chứa 2 hoặc nhiều biến đổi axit amin được nêu trong bảng 12 dưới đây, và hoạt tính của chúng để phân cắt C3 được mô tả trong bảng 14. SEQ ID NO: tham chiếu đến miền proteaza u-PA làm ví dụ chứa thay thế được mô tả, bao gồm thay thế ở C122S để giảm hoặc loại bỏ sự kết tụ. C122 là xystein tự do, có thể dẫn đến liên kết chéo giữa các polypeptit proteaza. Cần được hiểu rằng miền proteaza là ví dụ, và phân tử có chiều dài đầy đủ và tiền chất, cũng như các phần có hoạt tính xúc tác khác của miền proteaza, polypeptit có chiều dài đầy đủ và tiền chất có thể bao gồm thay thế được mô tả, để tạo thành polypeptit u-PA biến đổi được hoạt hóa có chiều dài đầy đủ và các dạng khác.

Bảng 12. polypeptit u-PA biến đổi		
Đánh số u-PA trưởng thành	Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO làm ví dụ
F173Y/V185D/Y187H/V188R/L250A/H252Q/C279S/M314K	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	8
F173Y/R178W/R179H/H180E/V185E/T186W/Y187H/V188R/Y209Q/T249E/L250A/H252Q/C279S/Y306K/M314K	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	9

Bảng 12. polypeptit u-PA biến đổi		
Đánh số u-PA trưởng thành	Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO làm ví dụ
F173Y/R178W/R179H/H180D/V185E/T186Y/Y187F/V188R/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R/M314K	F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	10
R178W/R179H/H180N/V185E/T186F/Y187F/V188R/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R/M314K/Q353H	R35W/R36H/H37N/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H	11
F173Y/R178Y/R179H/H180K/V185E/T186F/Y187F/V188R/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R/M314K	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	12
F173Y/R178W/R179H/H180N/V185E/T186Y/Y187F/V188R/Y209S/T249E/L250A/H252Q/C279S/Y306K/M314K	F30Y/R35W/R36H/H37N/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	13
F173Y/R178W/R179H/H180P/V185E/T186Y/Y187F/V188R/Y209S/T249E/L250A/H252Q/C279S/Y306K/M314K	F30Y/R35W/R36H/H37P/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	14
V185E/Y187Q/V188L/Y209L/L250A/H252Q/ C279S	V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	15
F173Y/R178Q/R179H/H180G/R181E/V185E/T186F/Y187F/V188R/D208P/Y209S/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R/M314K	F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	16
F173Y/R178Y/R179H/H180P/R181Q/V185E/T186Y/Y187F/V188R/Y209H/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R/M314K	F30Y/R35Y/R36H/H37P/R37aQ/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bH/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	17
R178Q/H180Y/R181E/V185E/T186Y/V188R/D208T/Y209T/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	18

Bảng 12. polypeptit u-PA biến đổi		
Đánh số u-PA trưởng thành	Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO làm ví dụ
R178W/H180P/R181N/V185E/T186Y/V188R/D208P/Y209L/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	19
R178W/H180D/R181P/V185E/T186W/V188R/Y209A/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35W/H37D/R37aP/V38E/T39W/V41R/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	20
R178Q/H180Y/R181E/V185E/T186Y/V188R/D208P/Y209Q/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	21
H180Y/R181E/V185E/T186Y/V188R/D208P/Y209Q/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	22
R178Q/R181E/V185E/T186Y/V188R/D208P/Y209Q/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35Q/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	23
R178Q/H180Y/V185E/T186Y/V188R/D208P/Y209Q/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35Q/H37Y/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	24
R178Q/H180Y/R181E/T186Y/V188R/D208P/Y209Q/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35Q/H37Y/R37aE/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	25
R178Q/H180Y/R181E/V185E/V188R/D208P/Y209Q/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	26
R178Q/H180Y/R181E/V185E/T186Y/D208P/Y209Q/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	27
R178Q/H180Y/R181E/V185E/T186Y/V188R/Y209Q/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	28
R178Q/H180Y/R181E/V185E/T186Y/V188R/D208P/T249I/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	29

Bảng 12. polypeptit u-PA biến đổi		
Đánh số u-PA trưởng thành	Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO làm ví dụ
R178Q/H180Y/R181E/V185E/T186Y/V188R/D208P/Y209Q/L250A/H252Q/C279S/Y306R	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	30
R178Q/H180Y/R181E/V185E/T186Y/V188R/D208P/Y209Q/T249I/H252Q/C279S/Y306R	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/H99Q/C122S/Y149R	31
R178Q/H180Y/R181E/V185E/T186Y/V188R/D208P/Y209Q/T249I/L250A/C279S/Y306R	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/C122S/Y149R	32
R178Q/H180Y/R181E/V185E/T186Y/V188R/D208P/Y209Q/T249I/L250A/H252Q/C279S	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	33
Y187Q/V188L/Y209L/ L250A/H252Q/ C279S	Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	34
V185E/Y187Q/ Y209L/L250A/H252Q/ C279S	V38E/Y40Q/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	35
V185E/Y187Q/ V188L/L250A/H252Q/ C279S	V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S	36
V185E/Y187Q/ V188L/Y209L/H252Q/ C279S	V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/H99Q/C122S	37
V185E/Y187Q/ V188L/ Y209L/L250A/ C279S	V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/C122S	38
Y187Q/ V188L/L250A/H252Q/C279S	Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S	39
Y187Q/ V188L/L250A/ C279S	Y40Q/V41L/L97bA/C122S	40
R181S/ V188R/ L250G/ H252Q/C279S	R37aS/V41R/L97bG/H99Q/C122S	41
T186Y/ V188R/ L250A/ H252Q/C279S	T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S	42
T186Y/V188R/Y209Q/L250A/H252Q/C279S	T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S	43

Bảng 12. polypeptit u-PA biến đổi		
Đánh số u-PA trưởng thành	Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO làm ví dụ
T186Y/V188R/D208P/L250A/H252Q/C279S	T39Y/V41R/D60aP/L97bA/H99Q/C122S	44

2. Biến đổi bổ sung

Bất kỳ trong số các polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể chứa một hoặc nhiều biến đổi bổ sung bất kỳ. Biến đổi bổ sung có thể bao gồm, ví dụ, thế, bỏ hoặc chèn axit amin bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, thường là bất kỳ làm tăng độ đặc hiệu hướng tới protein bổ thể C3 so với hoạt tính u-PA hướng tới plasminogen và/hoặc thay đổi tính chọn lọc đối với protein bổ thể C3. Ngoài ra, dự kiến là biến đổi làm thay đổi hoạt tính được quan tâm bất kỳ khác. Trong lĩnh vực kỹ thuật này, được biết từ lâu rằng biến đổi axit amin của trình tự chính là bổ sung (xem, ví dụ, Wells (1990) *Biochem* 29:8509-8517). Polypeptit u-PA biến đổi bất kỳ được đề xuất trong bản mô tả này có thể chứa 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 hoặc nhiều hơn biến đổi axit amin bổ sung để cung cấp hoạt tính hoặc hoạt tính thay đổi bổ sung.

Ví dụ của biến đổi bổ sung mà có thể được bao gồm trong polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, được mô tả ở patent Mỹ số 4,997,766; 5,126,134; 5,129,569; 5,275,946; 5,571,708; 5,580,559; 5,648,253; 5,728,564; 5,759,542; 5,811,252; 5,891,664; 5,932,213; 5,980,886; 6,248,712; 6,423,685; 7,070,925; 7,074,401; 7,807,457; 7,811,771; 8,211,428; công bố đơn sáng chế Mỹ số 2002/0106775; 2004/0265298; 2004/0146938; 2009/0010916; 2011/0055940; 2008/0020416; 2006/0142195; công bố đơn sáng chế quốc tế số WO1988/008451; WO1989/010401; WO1990/004635; WO1996/013160; WO 2002/40503; Petersen *et al.* (2001) *Eur J Biochem* 268:4430-4439; Skeldal *et al.* (2006) *FEBS J* 273:5143-5149; Sun *et al.* (1997) *J Biol Chem* 272:23818-23823; Blouse *et al.* (2009) *J Biol Chem* 284:4647-4657; Nelles *et al.* (1987) *JBC* 262:5682-5689; Crowley *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5021-5025; Zeslawska *et al.* (2000) *J Mol Biol* 301:465-475; Zeslawska *et al.* (2003) *J Mol Biol* 328:109-118; Quax *et al.* (1998) *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:693-701; Homandberg and Wai (1990) *Thrombin Res*

58:403-412; Zaitsev *et al.* (2010) *Blood* 115:5241-5248; Yang *et al.* (1994) *Biochemistry* 33:606-612; Davidow *et al.* (1991) *Protein Eng* 4:923-928; Boutad and Castellino (1993) *Arch Biochem Biophys* 303:222-230; Tsujikawa *et al.* (1996) *Nấm men* 12:541-553; Carriero *et al.* (2002) *Biol Chem* 383:107-113; Stopelli *et al.* (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82:4939-4943; Stoppelli *et al.* (1987) *J Biol Chem* 262:4437-4440; Franco *et al.* (1998) *J Biol Chem* 273:27734-27740; Franco *et al.* (1997) *J Cell Biol* 137:779-791; Li *et al.* (1995) *J Biol Chem* 270:30282-30285; Botkjaer *et al.* (2009) *Biochemistry* 48:9606-9617; Bdeir *et al.* (2003) *Blood* 102:3600-3608; Eguchi *et al.* (1990) *J Biochem* 108:72-79; Miyake *et al.* (1988) *J Biochem* 104:643-647; Bergstrom *et al.* (2003) *Biochem* 42:5395-5402; Sun and Liu (2005) *Protein* 61:870-877; Sun *et al.* (1998) *Biochemistry* 37:2935-2940; Anderson *et al.* (2008) *Biochem J* 412:447-457; Li et al. (1992) *Biochim Biophys Acta* 1159:37-43; Lijnen *et al.* (1988) *Eur J Biochem* 177:575-582; Lijnen *et al.* (1988) *Eur J Biochem* 172:185-188; Lijnen *et al.* (1992) *Eur J Biochem* 205:701-709; Lijnen *et al.* (1994) *Eur J Biochem* 224:567-574; Lijnen *et al.* (1990) *J Biol Chem* 265:5232-5236; Yoshimoto *et al.* (1996) *Biochim Biophys Acta* 1293:83-89; Magdolen *et al.* (1996) *Eur J Biochem* 237:743-751; Nienaber *et al.* (2000) *J Biol Chem* 275:7239-7248; Gurewich *et al.* (1988) *J Clin Invest* 1956-1962; Liu *et al.* (1996) *Biochemistry* 35:14070-14076; Liu *et al.* (2002) *Circ Res* 90:757-763; Mukhina *et al.* (2000) *J Biol Chem* 275:16450-16458; Peng *et al.* (1997) *Biochem Mol Biol Int* 41:887-894; Turkmen *et al.* (1997) *Electrophoresis* 18:686-689; Peng *et al.* (1999) *Biotechnol Lett* 21:979-985; Ueshima *et al.* (1994) *Thromb Haemost* 71:134-140; and Melnick *et al.* (1990) *J Biol Chem* 265:801-807. Ví dụ không giới hạn của biến đổi axit amin làm ví dụ được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật này bao gồm bất kỳ một hoặc nhiều trong số S9A, C13A, T18A, C19A, V20A, S21A, N22Y, N22A, N22Q, N22R, K23A, K23H, K23Q, K23E, Y24A, F25A, S26A, S26F, N27A, N27R, I28A, H29A, H29R, W30A, W30R, W30F, N32S, K35A, G38R, E43A, I44A, D45A, K46A, S47A, S47G, K48A, K48P, T49A, Y51A, N54A, L80H, Q81R, Q82P, T83R, H99Y, P105A, D106A, N107A, R108A, R108D, R109A, R110A, G118N, L119R, K120R, K120A, P121L, L122T, L122R, V123Y, V123W, Q124A, E125A, H129A, D130G, C131W, K135G, K135S, K135Y, K135Q, K136P, S138E, C148S, C148A, K151E, T152A, R154G, R154P, R154A, P155R, P155L, P155A, P155N, P155S, P155G, P155Q, R156P, R156A, R156H, R156S, R156Y, R156E, R156G, R156L, F157L,

F157T, F157G, F157Q, F157D, F157E, K158R, K158E, K158A, K158H, K158S, K158Y, K158G, K158W, K158V, K158M, I159R, I159A, I159P, I159G, I160A, I160K, G162R, E163A, F164V, F164A, F164V, I167L, P171L, F173I, F173V, F173L, F173T, F173G, F173M, A175S, Y177A, R178A, R179A, H180A, R181A, S184A, T186A, T186E, T186D, Y187A, Y187H, V188A, S192N, I194M, S195A, H204A, H204Q, F206A, D208A, Y209A, P210A, K211A, K211Q, K212A, E213A, D214A, Y215A, I216A, Y218A, R221A, S222L, R223G, R223A, L224A, L224P, N225A, S226P, N227A, Q229A, E231G, K233E, K233A, F234A, E235K, E235A, E237A, I240V, K243E, K243A, D244A, Y245A, D255A, R262A, K264A, E265A, R267A, C268Y, C279S, C279A, F289L, G290D, E294G, I295T, G297D, F298A, G299A, G299H, K300A, K300H, K300W, E301D, E301A, E301H, N302A, N302Q, N302V, N302L, N302I, N302S, N302T, S303E, S303A, S303E, T304A, T304V, T304M, D305A, Y306A, Y306G, Y306V, Y306H, L307A, Y308A, P309A, P309S, P309T, P309V, P309G, P309N, P309L, P309D, P309R, P309H, P309F, P309W, E310A, Q311A, L312P, L312V, L312M, K313Y, K313T, K313A, K313H, T315A, T315I, V316A, V317A, Y330H, A343T, D344A, Q346A, W347A, K348A, K348E, T349I, D350A, S351A, Q353A, G354R, D355A, S356A, G357E, G366C, R378C, R378A, K383A, K385A, R400A, H402A, K404A, E405A, E406A G408A, hoặc A410V, theo trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:3. Biến đổi bổ sung bao gồm thay thế axit amin giới thiệu vị trí glycosyl hóa.

Polypeptit u-PA biến đổi bao gồm chứa biến đổi hóa học hoặc sau dịch mã. Theo một số ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này không chứa biến đổi hóa học hoặc sau dịch mã. Biến đổi hóa học và sau dịch mã bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, pegyl hóa, sialat hóa, albumin hóa, glycosyl hóa, farnysyl hóa, carboxyl hóa, hydroxyl hóa, PASyl hóa, HESyl hóa, phosphoryl hóa, liên kết với (các) miền đa hợp hóa, như Fc, và các biến đổi polypeptit khác được biết đến trong lĩnh vực này. Ngoài bất kỳ biến đổi nào của một hoặc nhiều axit amin, như thay thế axit amin, chèn, loại bỏ, và kết hợp của chúng, được đề xuất trong bản mô tả này, polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được liên hợp hoặc dung hợp với bất kỳ gốc nào bằng cách sử dụng bất kỳ phương pháp nào đã biết trong lĩnh vực này, bao gồm cả các phương pháp hóa học và tái tổ hợp, cung cấp polypeptit tạo thành, khi

ở dạng hoạt động, vẫn giữ được khả năng gây hiệu ứng phân cắt ức chế hoặc bất hoạt của protein bổ thể C3.

Ví dụ, ngoài bất kỳ biến đổi nào của một hoặc nhiều axit amin, như axit amin thay thế, được đề xuất trong bản mô tả này, polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này cũng có thể chứa các biến đổi khác có hoặc không có trong trình tự chính của polypeptit, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sửa đổi với gốc hydrat cacbon, gốc polyetylen glycol (PEG), gốc ủ bạc, miền Fc từ globulin miễn dịch G hoặc bất kỳ miền hoặc gốc nào khác. Ví dụ, những sửa đổi bổ sung như vậy có thể được thực hiện để tăng độ ổn định hoặc thời gian bán hủy huyết thanh của protein.

a. Khả năng sinh miễn dịch giảm

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được biến đổi để giảm tính sinh miễn dịch. Tính sinh miễn dịch giảm có thể được thực hiện bằng cách thay đổi trình tự loại bỏ epitop kháng nguyên khỏi polypeptit hoặc bằng cách thay đổi biến đổi sau dịch mã. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này quen thuộc với phương pháp xác định epitop kháng nguyên trong polypeptit (xem ví dụ, Liang *et al.* (2009) *BMC Bioinformatics*, 10:302; Yang *et al.* (2009) *Rev. Med. Virol.*, 19:77-96). Trong một số ví dụ, một hoặc nhiều axit amin có thể được biến đổi để loại bỏ hoặc thay đổi epitop kháng nguyên. Trong ví dụ khác, việc thay đổi quá trình glycosyl hóa của protein cũng có thể ảnh hưởng đến khả năng sinh miễn dịch. Ví dụ, dự tính thay đổi quá trình glycosyl hóa của peptit, miễn là polypeptit giữ được khả năng tác động đến sự phân cắt ức chế hoặc bất hoạt của protein bổ thể C3. Vị trí glycosyl hóa có thể được loại bỏ bằng đột biến đơn lẻ. Vị trí glycosyl hóa có thể được bổ sung bằng cách đưa vào trình tự chuẩn, như bằng cách chèn hoặc một hoặc nhiều đột biến, như NXS(T), trong đó X không phải là prolin. Vị trí glycosyl hóa cũng có thể làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh.

b. Miền Fc

Các polypeptit u-PA được sửa đổi có thể được liên kết với vùng Fc của polypeptit globulin miễn dịch. Thông thường, sự dung hợp như vậy giữ lại ít nhất một bản lề hoạt động về mặt chức năng, các miền CH2 và CH3 của vùng không đổi của chuỗi nặng globulin miễn dịch. Ví dụ, trình tự Fc có chiều dài đầy đủ của IgG1 bao gồm các axit amin 99-330 của trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 45 dưới đây.

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr 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 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys.
325 330

Trình tự Fc làm ví dụ cho hIgG1 được nêu trong SEQ ID NO:50:

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
1 5 10 15
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
20 25 30

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

Nó chứa gần như tất cả trình tự bản lề tương ứng với axit amin 100-110 của SEQ ID NO: 45; trình tự hoàn chỉnh cho miền CH2 và CH3 như được nêu trong SEQ ID NO: 45.

Một polypeptit Fc ví dụ khác được nêu trong đơn đăng ký PCT Số xuất bản WO 93/10151, và là polypeptit chuỗi đơn kéo dài từ vùng bản lề tận cùng N đến đầu tận C bản địa của vùng Fc của kháng thể IgG1 của người (SEQ ID SỐ:50). Vị trí chính xác mà tại đó liên kết được thực hiện không quan trọng: các vị trí cụ thể được biết đến nhiều và có thể được lựa chọn để tối ưu hóa hoạt tính sinh học, sự bài tiết hoặc các đặc tính liên kết của polypeptit HABP. Ví dụ, các trình tự polypeptit Fc được lấy làm ví dụ khác bắt đầu từ axit amin C109 hoặc P113 của trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 45 (xem ví dụ, công bố đơn sáng chế Mỹ số 2006/0024298).

Ngoài hIgG1 Fc, các vùng Fc khác và các miền đa số hóa khác cũng có thể được sử dụng. Ví dụ, khi các chức năng của tác nhân tác động được trung gian bởi tương tác

Fc/FcγR được giảm thiểu, thì việc dung hợp với các isotype IgG thu nạp kém các tế bào bổ thể hoặc tế bào hiệu ứng, như Fc của IgG2 hoặc IgG4, được dự tính. Ngoài ra, dung hợp Fc có thể chứa các trình tự globulin miễn dịch được mã hóa về cơ bản bởi các gen globulin miễn dịch thuộc bất kỳ lớp kháng thể nào, bao gồm, nhưng không giới hạn ở IgG (bao gồm các phân lớp IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4), IgA (bao gồm cả các phân lớp người) Các lớp kháng thể IgA1 và IgA2), IgD, IgE và IgM. Các liên kết có thể được sử dụng để liên kết cộng hóa trị Fc với một polypeptit khác để tạo ra thể khảm Fc.

Miền Fc biến đổi cũng được biết đến. Theo một số ví dụ, vùng Fc được biến đổi sao cho nó biểu hiện liên kết thay đổi với FcR để dẫn đến chức năng tác động thay đổi (tức là nhiều hoặc ít) hơn chức năng tác động của vùng Fc của chuỗi nặng globulin miễn dịch kiểu dại. Do đó, miền Fc biến đổi có thể làm thay đổi ái lực, bao gồm nhưng không bị giới hạn ở, tăng hoặc thấp hoặc không có ái lực với thụ thể Fc. Ví dụ, các phân lớp IgG khác nhau có các ái lực khác nhau đối với FcγR, với IgG1 và IgG3 thường liên kết tốt hơn đáng kể với thụ thể so với IgG2 và IgG4. Các FcγR khác nhau làm trung gian cho các chức năng tác động khác nhau. FcγR1, FcγRIIa/c, và FcγRIIIa là chất điều hòa dương quá trình hoạt hóa phức hợp miễn dịch được hoạt hóa, được đặc trưng bởi có miền nội bào có mô típ hoạt hóa dựa trên tyrosin thụ thể miễn dịch (ITAM). Tuy nhiên, FcγRIIb có môtíp ức chế dựa trên tyrosin thụ thể miễn dịch (ITIM) và do đó có tính ức chế. Thay đổi ái lực của vùng Fc đối với thụ thể có thể điều hòa chức năng tác động và/hoặc tính chất dược động học liên quan đến miền Fc. Miền Fc biến đổi được biết đến bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả trong tài liệu, xem ví dụ, patent Mỹ số 5,457,035; công bố đơn số US 2006/0024298; và công bố đơn quốc tế số WO 2005/063816 cho biến đổi làm ví dụ.

Các polypeptit thể khảm thu được chứa các nguyên tố Fc, và các đa phân được hình thành từ đó, có thể dễ dàng tinh sạch bằng sắc ký ái lực trên cột Protein A hoặc Protein G.

Trong một ví dụ khác, polypeptit u-PA được sửa đổi có thể được liên kết với albumin huyết thanh người (HSA), như gốc 25-608 HSA hoặc chiều dài đầy đủ, hoặc một phần của nó:

```
          10         20         30         40         50
MKWVTFISLL FLFSSAYSRG VFRRDAHKSE VAHRFKDLGE ENFKALVLIA
          60         70         80         90         100
```

```
FAQYLQQCPF EDHVKLVNEV TEFAKTCVAD ESAENCDKSL HTLFGDKLCT
       110         120         130         140         150
VATLRETYGE MADCCAKQEP ERNECFLQHK DDNPNLPRLV RPEVDVMCTA
       160         170         180         190         200
FHDNEETFLK KYLYEIARRH PYFYAPELLF FAKRYKAAFT ECCQAADKAA
       210         220         230         240         250
CLLPKLDELR DEGKASSAKQ GLKCASLQKF GERAFKAWAV ARLSQRFPKA
       260         270         280         290         300
EFAEVSKLVT DLTKVHTECC HGDLLECADD RADLAKYICE NQDSISSKLK
       310         320         330         340         350
ECCEKPLLEK SHCIAEVEND EMPADLPSLA ADFVGSKDVC KNYAEAKDVF
       360         370         380         390         400
LGMFLYEYAR RHPDYSVVLL LRLAKTYETT LEKCCAAADP HECYAKVFDE
       410         420         430         440         450
FKPLVEEPQN LIKQNCELFE QLGEYKFQNA LLVRYTKKVP QVSTPTLVEV
       460         470         480         490         500
SRNLGKVGSK CCKHPEAKRM PCAEDCLSVF LNQLCVLHEK TPVSDRVTKC
       510         520         530         540         550
CTESLVNGRP CFSALEVDET YVPKEFNAET FTFHADICTL SEKERQIKKQ
       560         570         580         590         600
TALVELVKHK PKATKEQLKA VMDDFAAFVE KCCKADDKET CFAEEGKKLV
```

AASQ**AALG**L

c. Liên hợp với polyme

Theo một số ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này được liên hợp với các polyme khác. Polyme có thể tăng kích thước của polypeptit để giảm độ thanh thải của thận và do đó làm tăng thời gian bán thải hoặc thay đổi cấu trúc của polypeptit để tăng thời gian bán hủy hoặc giảm khả năng sinh miễn dịch. Polyme làm ví dụ có thể được liên hợp với polypeptit u-PA bao gồm homopolyme tự nhiên và tổng hợp, như polyol (tức là poly-OH), polyamin (tức là poly-NH_2) và axit polycarboxylic (tức là poly-COOH), và các dị polyme khác tức là polyme bao gồm một hoặc nhiều nhóm ghép nối khác nhau, ví dụ, nhóm hydroxyl và nhóm amin. Ví dụ của phân tử polyme thích hợp bao gồm phân tử polyme được chọn từ trong số các oxit polyalkylen (PAO), như polyalkylen glycol (PAG), bao gồm polyetylen glycol (PEG), metoxypolyetylen glycol (mPEG) và polypropylen glycol, PEG-glyxidyl ete (Epox-PEG), PEG-oxycacbonylimidazol (CDI-PEG), polyetylen glycol phân nhánh (PEG), rượu polyvinyl (PVA), polycarboxylat, polyvinylpyrolidon, poly-D,L-axit amin, polyetylen-co-axit maleic anhydrit, polystyren-co-axit maleic anhydrit, dextran bao gồm carboxymetyl-dextran, heparin, albumin tương đồng, xenluloza, bao gồm metylxenluloza, carboxymetylxenluloza, etylxenluloza, hydroxyetylxenluloza, carboxyetylxenluloza và hydroxypropylxenluloza, sản phẩm thủy phân của chitosan,

tinh bột như tinh bột hydroxyetyl, tinh bột hydroxypropyl, glycogen, agaroza và dẫn xuất của chúng, gôm guar, pullulan, inulin, gôm xanthan, carrageenan, pectin, chất thủy phân axit alginic và polyme sinh học.

Thông thường, các polyme là các oxit polyalkylen (PAO), như các oxit polyetylen, như PEG, điển hình là mPEG, có ít nhóm phản ứng có khả năng liên kết chéo. Thông thường, các polyme là các phân tử polyme không độc hại như (metoxy) polyetylen glycol (mPEG) có thể được liên hợp cộng hóa trị với các polypeptit u-PA (ví dụ, với các nhóm gắn trên bề mặt protein) bằng cách sử dụng một hóa học tương đối đơn giản.

Phân tử polyme thích hợp để gắn vào polypeptit u-PA bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, polyetylen glycol (PEG) và dẫn xuất PEG như metoxy-polyetylen glycol (mPEG), ete PEG-glyxidyl (Epox-PEG), PEG-oxycacbonylimidazol (CDI-PEG), PEG phân nhánh và polyetylen oxit (PEO) (xem, ví dụ, Roberts *et al.*, *Advanced Drug Delivery Review* 2002, 54: 459-476; Harris and Zalipsky (eds.) "Poly(ethylene glycol), Chemistry and Biological Applications" ACS Symposium Series 680, 1997; Mehvar *et al.*, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.,* 3(1):125-136, 2000; Harris and Chess (2003) *Nat Rev Drug Discov*. 2(3):214-21; and Tsubery, *J Biol. Chem* 279(37):38118-24, 2004). Phân tử polyme có thể có khối lượng phân tử thường nằm trong khoảng từ 3 kDa đến khoảng 60 kDa. Theo một số phương án, phân tử polyme được liên hợp với polypeptit U-PA được đề xuất trong bản mô tả này có khối lượng phân tử là 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 hoặc nhiều hơn 60 kDa.

Phương pháp biến đổi polypeptit bằng cách gắn cộng hóa trị (liên hợp) dẫn xuất PEG hoặc PEG (tức là "PEGyl hóa") nổi tiếng trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, U.S. 2006/0104968; US 5,672,662; US 6,737,505; và U.S. 2004/0235734). Các kỹ thuật cho PEGyl hóa bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các gen liên kết chuyên biệt và các hóa chất kết hợp (xem, ví dụ, Harris, *Adv. Drug Deliv. Rev*. 54:459-476, 2002), gắn nhiều gốc PEG vào một vị trí liên hợp duy nhất (như thông qua việc sử dụng PEG phân nhánh; xem, ví dụ, Veronese *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 12:177-180, 2002), PEGyl hóa theo vị trí cụ thể và/hoặc PEGyl hóa đơn (xem, ví dụ, Chapman *et al.*, *Nature Biotech*. 17:780-783, 1999), và PEGyl hóa enzym hướng vào vị trí (xem, ví dụ, Sato, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54:487-504, 2002) (xem thêm, ví dụ, Lu and Felix (1994) *Int. J. Peptit Protein Res*. 43:127-138; Lu and Felix (1993) *Peptit Res*. 6:142-6, 1993; Felix *et al.*

(1995) *Int. J. Peptit Res*. 46:253-64; Benhar *et al*. (1994) *J. Biol. Chem*. 269:13398-404; Brumeanu *et al*. (1995) *J Immunol*. 154:3088-95; xem thêm, Caliceti *et al*. (2003) *Adv. Drug Deliv. Rev*. 55(10):1261-77 and Molineux (2003) *Pharmacotherapy* 23 (8 Pt 2):3S-8S). Các phương pháp và kỹ thuật được mô tả trong phần này có thể tạo ra các protein có 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 hoặc hơn 10 dẫn xuất PEG hoặc PEG gắn với một phân tử protein đơn lẻ (xem, ví dụ, US 2006/0104968).

Nhiều chất phản ứng PEGyl hóa được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật này. Chất phản ứng này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, PEG hoạt hóa N-hydroxysucxinimidyl (NHS), sucxinimidyl mPEG, mPEG2-N-hydroxysucxinimit, mPEG sucxinimidyl alpha-metylbutanoat, mPEG sucxinimidyl propionat, mPciEG sucxinimidyl este butanoat, axit mPEG carboxynimit, PEG-sucxinimidyl propionat đồng chức năng, PEG propionaldehyt đồng chức năng, PEG butyraldehyt đồng chức năng, PEG maleimit, PEG hydrazit, p-nitrophenyl-cacbonat PEG, mPEG-benzotriazol cacbonat, propionaldehyt PEGPEG, mPy butryaldehyt mPEG metylketon, mPEG "không liên kết" maleimit, mPEG vinyl sulfon, mPEG thiol, mPEG orthopyridylthioeste, mPEG orthopyridyl disulfit, Fmoc-PEG-NHS, Boc-PEG-NHS, vinylsulfon PEG-NHS, acrylat PEG-NHS, fluorescein và PEG biotin PEG-NHS (xem, ví dụ, Monfardini *et al*., *Bioconjugate Chem*. 6:62-69, 1995; Veronese *et al*., J. *Bioactive Compatible Polymers* 12:197-207, 1997; U.S. 5,672,662; U.S. 5,932,462; U.S. 6,495,659; U.S. 6,737,505; U.S. 4,002,531; U.S. 4,179,337; U.S. 5,122,614; U.S. 5,183,550; U.S. 5,324, 844; U.S. 5,446,090; U.S. 5,612,460; U.S. 5,643,575; U.S. 5,766,581; U.S. 5,795, 569; U.S. 5,808,096; U.S. 5,900,461; U.S. 5,919,455; U.S. 5,985,263; U.S. 5,990, 237; U.S. 6,113,906; U.S. 6,214,966; U.S. 6,258,351; U.S. 6,340,742; U.S. 6,413,507; U.S. 6,420,339; U.S. 6,437,025; U.S. 6,448,369; U.S. 6,461,802; U.S. 6,828,401; U.S. 6,858,736; U.S. 2001/0021763; U.S. 2001/0044526; U.S. 2001/0046481; U.S. 2002/0052430; U.S. 2002/0072573; U.S. 2002/0156047; U.S. 2003/0114647; U.S. 2003/0143596; U.S. 2003/0158333; U.S. 2003/0220447; U.S. 2004/0013637; US 2004/0235734; U.S. 2005/000360; U.S. 2005/0114037; U.S. 2005/0171328; U.S. 2005/0209416; EP 01064951; EP 0822199; WO 00176640; WO 0002017; WO 0249673; WO 9428024; và WO 0187925).

d. Miền chuyển nạp protein

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được liên kết, như protein dung hợp chứa kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, liên hợp với miền chuyển nạp protein (PTD) tăng khả năng lưu giữ kháng thể tại vị trí đích để điều trị, như vị trí niêm mạc, như mắt. Bất kỳ PTD nào cũng có thể được sử dụng miễn là PTD thúc đẩy liên kết với các bề mặt tế bào đích tại vị trí điều trị (ví dụ, vị trí niêm mạc) và/hoặc hấp thu polypeptit u-PA đã được sửa đổi bởi các tế bào đích tại vị trí điều trị (ví dụ, vị trí niêm mạc, như mắt).

Nói chung, PTD bao gồm các peptit cation ngắn có gen liên kết với bề mặt tế bào thông qua gắn tĩnh điện vào màng tế bào và có thể được tế bào hấp thụ bằng cách chuyển vị qua màng (Kabouridis (2003) *TRENDS Biotech* 21(11) 498-503). Các PTD được cung cấp thường tương tác với tế bào đích thông qua liên kết với glycosaminoglycans (GAG), như axit hyaluronic, heparin, heparan sulfat, dermatan sulfat, keratin sulfat hoặc chondroitin sulfat và các dẫn xuất của chúng.

Miền chuyển nạp protein có thể có chiều dài bất kỳ. Nói chung chiều dài của PTD nằm trong khoảng từ 5 hoặc khoảng 5 đến 100 hoặc khoảng 100 axit amin. Ví dụ, chiều dài của PTD có thể nằm trong khoảng từ 5 hoặc khoảng 5 đến 25 hoặc khoảng 25 axit amin. Trong một số ví dụ, PTD dài 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 hoặc 25 axit amin.

PTD đơn hoặc đa số nó có thể được liên hợp với polypeptit u-PA biến đổi. Chúng được sử dụng một cách thuận lợi để điều trị các rối loạn về mắt hoặc nhãn khoa, như bệnh võng mạc tiểu đường hoặc thoái hóa điểm vàng, bao gồm cả AMD. Ví dụ, nhiều bản sao của cùng một PTD (ví dụ, dime, trimer, tetramer, pentamer, hexamer, heptamer, octamer, nonamer, decamer hoặc multimer lớn hơn) hoặc các PTD khác nhau có thể được liên hợp với polypeptit u-PA đã sửa đổi.

Một số protein và các dẫn xuất peptit của chúng có đặc tính nội hóa tế bào. Các PTD ví dụ được biết đến trong lĩnh vực này và bao gồm, nhưng không giới hạn ở các PTD được liệt kê trong Bảng dưới đây, bao gồm, ví dụ, PTD có nguồn gốc từ virut suy giảm miễn dịch ở người 1 (HIV-1) TAT (SEQ ID NO: 125-135; Ruben *et al.* (1989) *J. Virol.* 63:1-8), protein tegument của virut herpes VP22 (SEQ ID NO: 140; Elliott and O'Hare (1997) *Cell* 88:223-233), protein nội địa của protein Drosophila melanogaster Antennapedia (Antp) (Penetratin PTD; SEQ ID NO: 112; Derossi *et al.* (1996) *J. Biol.*

Chem. 271:18188-18193), peptit chống vi khuẩn protegrin 1 (PG-1) SynB (ví dụ, SynB1 (SEQ ID NO: 121), SynB3 (SEQ ID NO: 122) và SynB4 (SEQ ID NO: 123); Kokryakov *et al.* (1993) *FEBS Lett.* 327:231-236) và Yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi Kaposi (SEQ ID NO: 105; Lin *et al.*, (1995) *J. Biol. Chem.* 270-14255-14258).

Các protein khác và dẫn xuất peptit của chúng được phát hiện có tính chất nội hóa tế bào tương tự. Peptit mang có nguồn gốc từ các protein này thể hiện ít tương đồng về trình tự với nhau, nhưng tất cả đều giàu cation và arginin hoặc lysin. Thật vậy, peptit poly-arginin tổng hợp được thể hiện là được nội hóa với mức độ hiệu quả cao và có thể được lựa chọn để liên hợp với kháng thể được đề xuất (Futaki *et al.* (2003) *J. Mol. Recognit.* 16:260-264; Suzuki *et al.* (2001) *J. Biol. Chem.* 276:5836-5840). PTD cũng có thể được chọn trong số một hoặc nhiều PTD tổng hợp, bao gồm nhưng không bị giới hạn ở, transportan (SEQ ID NO: 136; Pooga *et al.* (1988) *FASEB J.* 12:67–77; Pooga *et al.* (2001) *FASEB J.* 15:1451–1453), MAP (SEQ ID NO: 103; Oehlke *et al.* (1998) *Biochim. Biophys. Acta.* 1414:127–139), KALA (SEQ ID NO: 101; Wyman *et al.* (1997) *Biochemistry* 36:3008–3017) và các peptit cation khác, ví dụ như các peptit β–cation khác nhau (Akkarawongsa *et al.* (2008) *Antimicrob. Agents and Chemother.* 52(6):2120-2129). Peptit PTD bổ sung và PTD biến thể cũng được đề xuất trong, ví dụ, công bố đơn Mỹ số US 2005/0260756, US 2006/0178297, US 2006/0100134, US 2006/0222657, US 2007/0161595, US 2007/0129305, công bố đơn châu Âu số EP 1867661, công bố đơn PCT số WO 2000/062067, WO 2003/035892, WO 2007/097561, WO 2007/053512 và bảng 13 trong bản mô tả này (bên dưới). PTD bất kỳ được đề xuất trong bản mô tả này hoặc đã biết đến trong lĩnh vực này có thể được kết hợp với kháng thể điều trị được đề xuất.

Bảng 13: Miền chuyển nạp protein đã biết

Miền chuyển nạp protein (PTD)	Protein nguồn	SEQ ID NO
TRSSRAGLQFPVGRVHRLLRK	Buforin II	82
RKKRRRESRKKRRRES	DPV3	83
GRPRESGKKRKRKRLKP	DPV6	84
GKRKKKGKLGKKRDP	DPV7	85

Bảng 13: Miền chuyển nạp protein đã biết		
Miền chuyển nạp protein (PTD)	Protein nguồn	SEQ ID NO
GKRKKKGKLGKKRPRSR	DPV7b	86
RKKRRRESRRARRSPRHL	DPV3/10	87
SRRARRSPRESGKKRKRKR	DPV10/6	88
VKRGLKLRHVRPRVTRMDV	DPV1047	89
VKRGLKLRHVRPRVTRDV	DPV1048	90
SRRARRSPRHLGSG	DPV10	91
LRRERQSRLRRERQSR	DPV15	92
GAYDLRRRERQSRLRRRERQSR	DPV15b	93
WEAALAEALAEALAEHLAEALAEALEALAA	GALA	94
KGSWYSMRKMSMKIRPFFPQQ	chuỗi Fibrinogen beta	95
KTRYYSMKKTTMKIIPFNRL	tiền chất chuỗi Fibrinogen gamma	96
RGADYSLRAVRMKIRPLVTQ	chuỗi Fibrinogen alpha	97
LGTYTQDFNKFHTFPQTAIGVGAP	hCT(9-32)	98
TSPLNIHNGQKL	HN-1	99
NSAAFEDLRVLS	nucleoprotein virut Influenza (NLS)	100
WEAKLAKALAKALAKHLAKALAKALKACEA	KALA	101
VPMLKPMLKE	Ku70	102
KLALKLALKALKAALKLA	MAP	103
GALFLGFLGAAGSTMGAWSQPKKKRKV	MPG	104

Bảng 13: Miền chuyển nạp protein đã biết		
Miền chuyển nạp protein (PTD)	Protein nguồn	SEQ ID NO
AAVALLPAVLLALLAP	Yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi 4 của người (yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi Kaposi)	105
VQRKRQKLM	N50 (NLS của NF-kB P50)	106
KETWWETWWTEWSQPKKKRKV	Pep-1	107
SDLWEMMMVSLACQY	Pep-7	108
RQIKIWFQNRRMKWKK	Penetratin	109
GRQIKIWFQNRRMKWKK	Biến thể penetratin	110
RRMKWKK	Penetratin ngắn	111
ERQIKIWFQNRRMKWKK	Penetratin 42-58	112
RRRRRRR	Poly Arginin - R7	113
RRRRRRRRR	Poly Arginin - R9	114
RVIRVWFQNKRCKDKK	pISL	115
MANLGYWLLALFVTMWTDVGLCKKRPKP	Prion của chuột PrPc1-28	116
LLIILRRRIRKQAHAHSK	pVEC	117
LLIILRRRIRKQAHAH	biến thể pVEC	118
VRLPPPVRLPPPVRLPPP	SAP	119
PKKKRKV	SV-40 (NLS)	120
RGGRLSYSRRRFSTSTGR	SynB1	121
RRLSYSRRRF	SynB3	122
AWSFRVSYRGISYRRSR	SynB4	123

Bảng 13: Miền chuyển nạp protein đã biết		
Miền chuyển nạp protein (PTD)	Protein nguồn	SEQ ID NO
YGRKKRRQRRRPPQ	Tat 47-60	124
YGRKKRRQRRR	Tat 47-57	125
YGRKKRRQRR	Tat 47-56	126
GRKKRRQRR	Tat 48-56	127
GRKKRRQRRR	Tat 48-57	128
RKKRRQRRR	Tat 49-57	129
RKKRRQRR	Tat 49-56	130
GRKKRRQRRRPPQ	Tat 48-60	131
GRKKR	Tat 48-52	132
CFITKALGISYGRKKRRQRRRPPQFSQTHQVSLSKQ	Tat 37-72	133
FITKALGISYGRKKRRQRRRPQFSQTHQVSLSKQ	Tat 38-72	134
YGRKKRRQRRRPP	Tat 47-59	135
GWTLNSAGYLLGKINLKALAALAKKIL	Transportan	136
AGYLLGKINLKALAALAKKIL	Transportan 10	137
GWTLNSAGYLLG	dẫn xuất Transportan	138
INLKALAALAKKIL	dẫn xuất Transportan	139
DAATATRGRSAASRPTERPRAPARSASRPRRPVD	VP22	140
DPKGDPKGVTVTVTVTVTGKGDPKPD	VT5	141
GALFLGWLGAAGSTMGAWSQPKKKRKV	Peptit dựa trên trình tự tín hiệu	142
KLALKLALKALKAALKLA	Peptit mẫu lưỡng tính	143

Bảng 13: Miền chuyển nạp protein đã biết		
Miền chuyển nạp protein (PTD)	Protein nguồn	SEQ ID NO
KFFKFFKFFK	Thấm qua thành tế bào vi khuẩn	144
LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLVPRTES	LL- 37	145
SWLSKTAKKLENSAKKRISEGIAIAIQGGPR	Cecropin P1	146
ACYCRIPACIAGERRYGTCIYQGRLWAFCC	alpha defensin	147
DHYNCVSSGGQCLYSACPIFTKIQGTCYRGKAKCCK	beta defensin	148
RKCRIWIRVCR	Bactenecin	149
RRRPRPPYLPRPRPPPFFPPRLPPRIPPGFPPRFPPRFPGKR	PR- 39	150
ILPWKWPWWPWRR	Indolicidin	151
GALFLGWLGAAGSTMGAWSQPKKKRKV	MPS	152
PVIRRVWFQNKRCKDKK	pIs1	153

Theo một số ví dụ, PTD có thể được biến đổi bằng cách thay thế lysin hoặc arginin bằng axit amin bazơ khác, như thay thế lysin bằng arginin hoặc bằng cách thay thế arginin bằng lysin.

E. Thử nghiệm để đánh giá hoặc theo dõi hoạt động u-PA trên các chức năng hoàn thiện

Các polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này thể hiện độ đặc hiệu và/hoặc tính chọn lọc đã thay đổi đối với protein bổ thể C3. Các polypeptit u-PA được sửa đổi được làm ví dụ phân cắt đặc biệt protein bổ thể C3 và do đó làm thay đổi sự hoạt hóa bổ thể. Hơn nữa, các polypeptit u-PA được sửa đổi được làm ví dụ được đề xuất trong bản mô tả này đã làm thay đổi, hoặc làm giảm độ đặc hiệu và/hoặc độ chọn lọc để phân cắt các cơ chất tự nhiên của u-PA, như plasminogen, và liên kết với uPAR.

Các thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* khác nhau có thể được sử dụng để kiểm tra hoặc sàng lọc polypeptit u-PA về khả năng phân cắt protein bổ thể C3 của chúng và tác

dụng của chúng đối với hoạt hóa bổ thể và bệnh và rối loạn qua trung gian bổ thể. Thử nghiệm này đã được biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có thể kiểm tra polypeptit u-PA cụ thể về việc phân cắt protein bổ thể C3 và/hoặc kiểm tra để đánh giá sự thay đổi bất kỳ về tác dụng của u-PA với hoạt tính qua trung gian bổ thể so với không có proteaza. Một số thử nghiệm này được lấy ví dụ trong bản mô tả này.

Các thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* làm ví dụ được đề xuất trong bản mô tả này để so sánh hoạt tính của polypeptit u-PA được sửa đổi trên chức năng của protein bổ thể C3. Như được thảo luận bên dưới, nhiều thử nghiệm, như các thử nghiệm để đo lường sự hoạt hóa bổ thể, được biết đến là một trong những hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Cũng được đề xuất trong bản mô tả này là các thử nghiệm được lấy làm ví dụ để xác định hoạt tính của polypeptit u-PA được biến đổi đối với các hoạt động của u-PA kiểu dại, như sự phân cắt plasminogen hoặc liên kết với uPAR. Các thử nghiệm cũng được cung cấp để xác định độ đặc hiệu của polypeptit u-PA được biến đổi cho protein bổ thể C3. Các thử nghiệm mẫu được mô tả dưới đây.

1. Phương pháp đánh giá hoạt tính của u-PA đối với chức năng của protein bổ thể C3

Proteaza u-PA biến đổi có thể biểu hiện thay đổi về độ đặc hiệu và/hoặc tính chọn lọc đối với một hoặc nhiều protein bổ thể bất kỳ và do đó làm bất hoạt một hoặc nhiều protein bổ thể bất kỳ, ví dụ như, C3, so với dạng có chiều dài đầy đủ, hình cầu hoặc kiểu dại tương ứng của proteaza u-PA biến đổi. Proteaza u-PA biến đổi vẫn giữ hoạt tính proteaza của chúng, nhưng có thể tăng độ đặc hiệu và/hoặc tính chọn lọc đối với bất kỳ một hoặc nhiều protein bổ thể nào. Proteaza u-PA biến đổi làm ví dụ phân cắt cụ thể bất kỳ một hoặc nhiều protein bổ thể, ví dụ như, C3, và do đó làm thay đổi hoạt tính của protein bổ thể. Tất cả các proteaza u-PA biến đổi này với độ đặc hiệu và/hoặc độ chọn lọc tăng lên đối với bất kỳ một hoặc nhiều protein bổ thể là phương pháp điều trị ứng viên.

Trong trường hợp proteaza u-PA được sửa đổi thể hiện độ đặc hiệu và/hoặc độ chọn lọc cao hơn đối với bất kỳ một hoặc nhiều protein bổ thể nào, các thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* có thể được sử dụng để theo dõi hoặc sàng lọc các proteaza về tác động lên các chức năng qua trung gian của bổ thể. Những thử nghiệm như vậy được biết đến với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực nghệ thuật. Một trong những

hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể kiểm tra một proteaza u-PA biến đổi để phân cắt bất kỳ một hoặc nhiều protein bổ thể nào, như, ví dụ, C3, và/hoặc thử nghiệm để đánh giá bất kỳ sự thay đổi nào về tác dụng của một proteaza u-PA biến đổi trên một hoạt động qua trung gian bổ thể so với sự vắng mặt của một proteaza u-PA đã được sửa đổi. Một số thử nghiệm như vậy được lấy làm ví dụ trong bản mô tả này.

Thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* làm ví dụ được đề xuất trong bản mô tả này để so sánh hoạt tính của proteaza u-PA biến đổi trên chức năng của bất kỳ một hoặc nhiều protein bổ thể được nhắm đích. Nhiều thử nghiệm có thể áp dụng cho các proteaza và proteaza biến đổi khác. Như được thảo luận ở trên, thử nghiệm đối với hoạt tính của bổ thể bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, thử nghiệm đo sản phẩm hoạt hóa của quá trình hoạt hóa bổ thể, ví dụ như phức hợp C5b-9 MAC, và sự tạo ra bất kỳ một hoặc nhiều trong số các sản phẩm phân cắt bổ thể như C4a, C5a, C3b và C3d. Thử nghiệm để đo sự hoạt hóa bổ thể cũng bao gồm thử nghiệm chức năng đo hoạt tính chức năng của thành phần cụ thể của con đường bổ thể, ví dụ như thử nghiệm tán huyết được sử dụng để đo sự hoạt hóa của bất kỳ một trong các con đường cổ điển, lectin hoặc thay thế. Thử nghiệm để đánh giá tác động của proteaza và proteaza biến đổi lên protein bổ thể và/hoặc chức năng qua trung gian của bổ thể bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, phân tích SDS, tiếp theo là nhuộm Thấm tách western hoặc Coomassie Brilliant Blue, thử nghiệm miễn dịch enzym và thử nghiệm tán huyết. Trong một ví dụ, thử nghiệm *in vitro* có thể được thực hiện bằng cách sử dụng protein bổ thể đã được tinh chế. Trong ví dụ khác, thử nghiệm *in vivo* có thể được thực hiện bằng cách thử nghiệm huyết thanh của loài, bao gồm cả loài động vật có vú hoặc người, để hoạt hóa chức năng của bổ thể. Thử nghiệm làm ví dụ được mô tả dưới đây.

Theo một ví dụ, thử nghiệm *in vitro* có thể được thực hiện sử dụng protein bổ thể tinh khiết C3, như được lấy ví dụ trong ví dụ 2-4. Trong ví dụ khác, thử nghiệm *in vitro* có thể được tiến hành trong các dung dịch phù hợp về mặt sinh lý (tức là dịch thủy tinh), như được nêu trong Ví dụ 5. Trong một ví dụ khác, các thử nghiệm *in vitro* có thể được thực hiện bằng cách sử dụng thư viện peptit để đánh giá độ đặc hiệu của sự phân cắt. Trong một ví dụ khác, các thử nghiệm có thể được tiến hành để đánh giá các chức năng bình thường của các polypeptit u-PA đã biến đổi, tức là hoạt động đối với các cơ chất bình thường. Các mô hình bệnh tật khác nhau được biết đến với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể được sử dụng để kiểm tra hiệu quả của các polypeptit u-

PA được đề xuất trong bản mô tả này đối với các bệnh và rối loạn qua trung gian bổ thể khác nhau.

a. Phát hiện protein

Phát hiện protein là phương tiện để đo các thành phần bổ sung riêng lẻ trong một mẫu. Các protein bổ thể có thể được phát hiện để đánh giá trực tiếp ảnh hưởng của polypeptit u-PA lên sự phân cắt của protein bổ thể C3, hoặc cách khác, các protein bổ thể có thể được đo lường như một phương tiện để đánh giá sự hoạt hóa bổ thể. Protein bổ thể C3, được xử lý khi có hoặc không có polypeptit u-PA, có thể được phân tích bằng bất kỳ một hoặc nhiều thử nghiệm nào bao gồm SDS-PAGE, tiếp theo là nhuộm Coomassie hoặc Thấm tách western, thử nghiệm miễn dịch enzym, hóa mô miễn dịch, đo tế bào dòng chảy, phép đo tân mạch, gel thạch khuếch tán, hoặc khuếch tán miễn dịch xuyên tâm. Các thử nghiệm mẫu để phát hiện protein được mô tả dưới đây.

i. Phân tích SDS-PAGE

Việc phân tích protein bổ thể khi có hoặc không tăng nồng độ của polypeptit u-PA có thể được thực hiện bằng cách phân tích protein trên SDS-PAGE, sau đó là phát hiện các protein đó. Trong các ví dụ này, protein bổ thể có thể được phát hiện bằng cách nhuộm toàn bộ protein, như nhuộm Coomassie Brilliant Blue, nhuộm Silver, hoặc bằng phương pháp khác bất kỳ đã biết đến bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, hoặc bằng Thấm tách western sử dụng kháng thể đa dòng hoặc đơn dòng đặc hiệu cho protein đặc hiệu. Thông thường, protein bổ thể đã tinh chế, ví dụ như, protein bổ thể C3, có thể được ủ khi có hoặc không có polypeptit u-PA. Protein bổ thể được xử lý có thể được phân giải trên gel SDS-PAGE, sau đó là phương pháp phát hiện protein trong gel, ví dụ, bằng cách nhuộm với màu xanh Coomasie Brilliant. Protein đã xử lý có thể được so sánh với protein có chiều dài đầy đủ cognat của nó và có thể xác định được sản phẩm thoái hóa được tạo thành do sự phân cắt proteaza của protein.

Theo một phương án khác, mẫu, như huyết thanh hoặc huyết tương người, có thể được xử lý khi có hoặc không có polypeptit u-PA hoặc có thể được thu thập sau khi xử lý động vật hoặc người có hoặc không có polypeptit u-PA. Mẫu được xử lý bằng u-PA có thể được phân tích trên SDS-PAGE và một protein bổ thể cụ thể có thể được phát hiện, như C3, C5 hoặc Yếu tố B, bằng Thấm tách western bằng cách sử dụng các kháng thể đơn dòng hoặc đa dòng chống lại protein. Sự phân cắt của protein bổ thể có thể được

so sánh với mẫu không được xử lý bằng polypeptit u-PA. Ngoài ra, mẫu có thể được kích thích để bắt đầu hoạt hóa bổ thể như ủ với IgG kích thích hoạt hóa con đường cổ điển hoặc bằng LPS kích thích hoạt hóa con đường thay thế. Mẫu có thể được phân giải bằng SDS-PAGE để phát hiện bất kỳ một hoặc nhiều protein bổ thể gốc để xác định sự có mặt hoặc không có sản phẩm phân cắt của một protein cụ thể so với mẫu protein không được xử lý bằng polypeptit u-PA. Trong các ví dụ như vậy, các phân tử hiệu ứng phân cắt của các protein bổ thể bản địa cũng có thể được phân tích bởi Thấm tách western bằng cách sử dụng các kháng thể đơn dòng và đa dòng để đánh giá sự hoạt hóa của một hoặc nhiều con đường bổ thể. Ví dụ về phân tử hiệu ứng bổ thể có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, C3a, C3d, iC3b, Bb và C5-b9. Ví dụ, sự giảm biểu hiện trong một mẫu Bb có thể chỉ ra rằng một polypeptit u-PA đã ức chế sự hoạt hóa của con đường thay thế bổ thể. Các sản phẩm phân cắt của các phân tử hiệu ứng cũng có thể được xác định để đánh giá tác động của việc tăng nồng độ của một polypeptit u-PA lên sự phân cắt của chính các phân tử tác động bổ thể.

ii. Thử nghiệm miễn dịch enzym

Thử nghiệm miễn dịch enzym (EIA; còn được gọi là thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym; ELISA) là thử nghiệm được sử dụng để đo sự có mặt của protein trong mẫu. Thông thường, phép đo protein là phép đo gián tiếp liên kết của protein với kháng thể, bản thân kháng thể này được đánh dấu hóa học bằng cơ chất có thể phát hiện được như enzym hoặc hợp chất huỳnh quang. Thử nghiệm EIA có thể được sử dụng để đo ảnh hưởng của polypeptit u-PA đối với sự hoạt hóa bổ thể bằng cách đo sự có mặt của phân tử hiệu ứng bổ thể được tạo ra sau khi hoạt hóa bổ thể. Trong ví dụ này, mẫu, ví dụ như huyết thanh hoặc huyết tương của người, có thể được xử lý sơ bộ khi có hoặc không có sự tăng nồng độ của polypeptit u-PA và sau đó được hoạt hóa để tạo ra hoạt hóa bổ thể bằng cách ủ với phân tử khởi đầu, hoặc có thể được thu thập sau khi điều trị động vật hoặc người bằng polypeptit u-PA. Ví dụ, con đường cổ điển có thể được hoạt hóa bằng cách ủ với IgG và con đường thay thế có thể được hoạt hóa bằng cách ủ mẫu với LPS. Thử nghiệm hoạt hóa bổ thể cụ thể cho con đường lectin yêu cầu rằng con đường bổ thể cổ điển bị ức chế vì hoạt động phân cắt C4/C2 của con đường lectin được chia sẻ với con đường bổ thể cổ điển. Sự ức chế con đường cổ điển có thể đạt được bằng cách sử dụng chất đệm cường độ ion cao ức chế liên kết của C1q với phức hợp miễn dịch và phá vỡ phức hợp C1, trong khi chất đệm cường độ ion cao không ảnh hưởng

đến hoạt tính liên kết carbohydrat của MBL. Do đó, sự hoạt hóa của con đường lectin có thể được tạo ra bằng cách ủ mẫu, như huyết thanh hoặc huyết tương của người, có bề mặt phủ mannan khi có mặt NaCl 1 M.

Sau khi hoạt hóa, mẫu có thể được dập tắt bằng cách bổ sung Pefabloc (Roche) và EDTA để giảm thiểu sự hoạt hóa tiếp tục của các con đường. Các mẫu có thể được phân tích sự hiện diện của các phân tử hiệu ứng bổ thể bằng thử nghiệm EIA hoặc ELISA. Các thử nghiệm EIA và ELISA để đo các protein bổ thể đã được một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết đến. Bất kỳ sản phẩm hoạt hóa bổ sung nào cũng có thể được đánh giá. Các sản phẩm hoạt hóa bổ thể mẫu để đo hoạt hóa bổ thể bao gồm iC3b, Bb, C5b-9, C3a, C3a-desArg và C5a-desArg. Con đường hoạt hóa bổ thể có thể được xác định tùy thuộc vào sản phẩm hoạt hóa bổ thể được đo. Ví dụ, phép đo sản phẩm phân cắt Bb là một điểm đánh dấu duy nhất của con đường thay thế.

Theo một số ví dụ, EIA có thể được ghép với việc phát hiện protein bổ thể được phân cắt bằng cách phân tích mẫu được xử lý bằng proteaza, được kích thích bởi SDS-PAGE, sau đó là phân tích Thấm tách western để xác định các thành phần bổ thể cụ thể. Sử dụng phần mềm đo mật độ, sự phân cắt của sản phẩm bổ thể có thể được so sánh với thành phần bổ thể có chiều dài đầy đủ được phân cắt trong suốt quá trình thử nghiệm và có thể xác định được sự xuất hiện của tất cả các sản phẩm phân hủy chính và phần trăm phân cắt.

iii. Khuếch tán miễn dịch xuyên tâm (RID)

Khuếch tán miễn dịch xuyên tâm (RID) là kỹ thuật dựa trên sự kết tủa của phức hợp miễn dịch được tạo thành giữa các kháng thể được kết hợp vào gel agaroza khi nó được đổ vào và kháng nguyên có mặt trong mẫu thử nghiệm dẫn đến đường precipitin hình tròn xung quanh giếng mẫu. Đường kính của vòng precipitin tỷ lệ với nồng độ của kháng thể (hoặc kháng nguyên) có trong mẫu thử. Bằng cách so sánh đường kính của vòng precipitin mẫu thử với tiêu chuẩn được biết, có thể đạt được ước tính tương đối không nhạy về nồng độ của kháng thể hoặc kháng nguyên cụ thể. RID có thể được sử dụng để đo lượng protein bổ thể trong mẫu. Ví dụ, mẫu như, ví dụ, huyết thanh hoặc huyết tương của người, có thể được xử lý khi có hoặc không có sự gia tăng nồng độ của polypeptit u-PA. Mẫu được xử lý bằng proteaza có thể được bổ sung vào giếng của gel agaroza được tạo ra để kết hợp kháng thể đa dòng hoặc đơn dòng chống lại bất kỳ trong

số các protein bổ thể, như bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, C3, C5, C6, C7, C9, hoặc yếu tố B. Sau khi loại bỏ protein chưa kết tủa bằng cách tiếp xúc với NaCl 0,15 M, vòng protein kết tủa có thể được đánh giá bằng cách nhuộm với thuốc nhuộm protein, như nhuộm Coomassie Brilliant blue hoặc Crowles double.

b. Thử nghiệm tan máu

Thử nghiệm tán huyết chức năng cung cấp thông tin về chức năng bổ thể nói chung. Loại thử nghiệm này sử dụng hồng cầu của cừu mẫn cảm hoặc không mẫn cảm với kháng thể. Thử nghiệm tan máu bao gồm thử nghiệm bổ thể tan máu toàn phần (CH50), đo khả năng của con đường cổ điển và MAC để dung giải RBC của cừu. Nó phụ thuộc vào sự hoạt hóa tuần tự của thành phần của con đường cổ điển (C1 đến C9) để dung giải hồng cầu của cừu được mẫn cảm với lượng tối ưu của kháng thể kháng hồng cầu của thỏ để tạo phức hợp kháng nguyên-kháng thể tế bào. Thử nghiệm tan máu cũng có thể bao gồm thử nghiệm CH50 theo con đường thay thế (CH50 hoặc APCH50 của thỏ), đo khả năng của con đường thay thế và MAC để dung giải RBC của thỏ. Một đơn vị CH50 và/hoặc APCH50 được định nghĩa là lượng hoặc độ pha loãng của huyết thanh cần thiết để dung giải 50% hồng cầu trong thử nghiệm. Thông thường, để đánh giá sự hoạt hóa bổ thể, mẫu, ví dụ như, huyết thanh của người hoặc huyết tương của người, có thể được xử lý khi có hoặc không có sự tăng nồng độ của polypeptit u-PA, hoặc có thể được thu thập sau khi điều trị động vật hoặc người khi có hoặc không có polypeptit u-PA. Sau đó, mẫu được xử lý bằng proteaza có thể được trộn với tế bào hồng cầu của cừu được hoạt hóa hoặc mẫn cảm với IgG. Mẫu nước duy nhất được trộn với tế bào hồng cầu cừu có thể hoạt động như chất kiểm soát dung giải toàn phần để đánh giá chính xác phần trăm độ dung giải của mẫu được phân tích. Có thể bổ sung NaCl 0,15M vào mẫu để dừng phản ứng dung giải. Sự dung giải của tế bào hồng cầu, được tạo ra bởi sự hoạt hóa của thành phần đầu tận của con đường bổ thể, có thể được đánh giá bằng cách đo sự giải phóng hemoglobin. Phép đo có thể bằng số đọc mật độ quang học (OD) của mẫu sử dụng máy quang phổ ở OD 415 nm.

Theo một phương án, có thể sử dụng thử nghiệm tan máu pha loãng để đo hoạt tính chức năng của các thành phần cụ thể của một trong hai con đường. Trong một thử nghiệm như vậy, nguồn huyết thanh được sử dụng có dư thừa tất cả các thành phần bổ thể, nhưng lại bị thiếu đối với thành phần được đo trong mẫu, tức là môi trường hoặc nguồn huyết thanh bị cạn kiệt bổ thể cho một protein cụ thể. Do đó, mức độ tan máu

phụ thuộc vào sự hiện diện của thành phần đo được trong mẫu thử. Trong một thử nghiệm như vậy, một protein bổ thể đã được tinh sạch, như bất kỳ một trong các protein bổ thể tự nhiên bao gồm, nhưng không giới hạn ở C3, có thể được ủ khi có hoặc không có sự gia tăng nồng độ của polypeptit u-PA. Sau đó, protein bổ thể tinh khiết được xử lý bằng proteaza có thể được trộn với môi trường hoặc huyết tương đã khử bổ thể và các tế bào hồng cầu cừu được hoạt hóa IgG và có thể đánh giá quá trình tán huyết của mẫu như mô tả ở trên. Theo một phương án khác, sự phân cắt proteaza có thể tương quan với sự hoạt hóa bổ thể bằng cách thử nghiệm hoạt tính tan máu của mẫu được xử lý bằng proteaza, và sau đó phân tích mẫu trên gel SDS-PAGE, sau đó nhuộm với vết protein, như Coomassie Blue. Protein bổ thể tinh khiết được xử lý bằng proteaza có thể được đánh giá về sự phân cắt và tỷ lệ phần trăm của thành phần bổ thể có chiều dài đầy đủ bị phân cắt trong suốt quá trình thử nghiệm và có thể tính được sự xuất hiện của tất cả các sản phẩm phân hủy chính. Ngoài ra, phân tích protein bổ thể được xử lý bằng proteaza có thể được thực hiện bằng Thấm tách western.

Phương án thay thế cho thử nghiệm tán huyết, được gọi là thử nghiệm miễn dịch liposome (LIA), có thể được sử dụng để đánh giá sự hoạt hóa của con đường cổ điển. LIA (Waco Chemicals USA, Richmond, Va.) Sử dụng liposome phủ dinitrophenyl (DNP) chứa enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase. Khi huyết thanh được trộn với liposome và cơ chất chứa kháng thể chống DNP, glucose-6-phosphat, và nicotinamide adenin dinucleotide, lyse liposome hoạt hóa, và phản ứng so màu enzym xảy ra tỷ lệ với tổng hoạt tính của bổ thể cổ điển.

c. Phương pháp xác định vị trí phân cắt

Trình tự phân cắt trong protein bổ thể C3 có thể được xác định bằng bất kỳ phương pháp nào được biết đến trong lĩnh vực này (xem ví dụ, công bố đơn Mỹ số US 2004/0146938). Trong một ví dụ, trình tự phân cắt được xác định bằng cách ủ protein bổ thể C3 với bất kỳ polypeptit u-PA biến đổi nào được đề xuất trong bản mô tả này. Sau khi ủ với polypeptit u-PA, protein C3 có thể được tách ra bằng SDS-PAGE và các sản phẩm phân hủy có thể được xác định bằng cách nhuộm với thuốc nhuộm protein như Coomassie Brilliant Blue. Các đoạn phân giải protein có thể được giải trình tự để xác định danh tính của các trình tự phân cắt. Sau khi xác định, cơ chất peptit flogen được thiết kế dựa trên trình tự phân cắt của cơ chất đích mong muốn có thể được sử dụng để đánh giá hoạt tính, như được mô tả dưới đây.

2. Phương pháp đánh giá hoạt tính u-PA kiểu dại

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này thay đổi, hoặc giảm, độ đặc hiệu đối với plasminogen và uPAR. polypeptit u-PA có thể được thử nghiệm để xác định liệu chúng có giữ lại hiệu quả xúc tác và/hoặc độ đặc hiệu của cơ chất đối với plasminogen cơ chất bản địa của chúng. Ví dụ, sự phân cắt plasminogen có thể được đánh giá bằng cách ủ polypeptit u-PA với plasminogen và phát hiện các sản phẩm phân cắt protein. Trong một ví dụ khác, sự phân cắt plasminogen có thể được xác định in vitro bằng cách đo sự phân cắt của tetrapeptit được gắn thẻ flogen của cơ chất peptit, ví dụ, cơ chất flogen, như fluorophores ACC (7-amino-4-carbamoyl¬methyl-coumarin) hoặc AMC (7-amino-4-metylcoumarin) liên kết với cơ chất tetrapeptit. Trong một số ví dụ, thử nghiệm hoạt hóa plasminogen được sử dụng để xác định độ đặc hiệu của polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này. Trong các ví dụ khác, khả năng của polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này để liên kết với thụ thể u-PA (uPAR) được xác định.

a. Sự phân cắt plasminogen

Theo một ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi có thể được thử nghiệm bằng cách sử dụng cơ chất peptit flogen riêng lẻ tương ứng với trình tự phân cắt mong muốn. Ví dụ, phương pháp thử nghiệm đối với proteaza u-PA biến đổi có thể phân cắt bất kỳ một hoặc nhiều trình tự phân cắt mong muốn bao gồm: (a) tiếp xúc với mẫu peptit flogen (chứa trình tự phân cắt mục tiêu mong muốn) với proteaza, trong đó theo cách mà gốc flogen được giải phóng khỏi trình tự cơ chất peptit khi hoạt hóa proteaza, do đó tạo ra gốc huỳnh quang; và (b) quan sát xem mẫu có trải qua sự thay đổi huỳnh quang có thể phát hiện được hay không, sự thay đổi có thể phát hiện được là dấu hiệu cho thấy sự có mặt của proteaza có hoạt tính enzym trong mẫu. Trong ví dụ này, trình tự phân cắt mong muốn được tạo thành peptit flogen bằng phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Theo một phương án, trình tự phân cắt peptit riêng lẻ có thể được gắn vào cơ chất được gắn thẻ chứa flogen, như nhóm rời flogen ACC hoặc AMC, và việc giải phóng gốc flogen có thể được xác định như phép đo độ đặc hiệu của proteaza đối với trình tự phân cắt peptit. Tốc độ tăng huỳnh quang của trình tự phân cắt đích có thể được đo bằng cách sử dụng máy quang phổ huỳnh quang. Tốc độ tăng huỳnh quang có thể được đo theo thời gian. Hằng số động học Michaelis-Menton có thể được xác định bằng phương pháp động học tiêu chuẩn. Hằng số động học k_{cat}, K_m và k_{cat}/K_m có thể được tính bằng cách vẽ đồ

thị nghịch đảo của nồng độ cơ chất so với nghịch đảo của vận tốc phân cắt cơ chất và phù hợp với công thức Lineweaver-Burk (1/vận tốc=(K_m/V_{max}) (1/[S]) + $1/V_{max}$; trong đó V_{max}=[ET]k_{cat}). Hằng số tốc độ bậc hai hoặc hằng số độ đặc hiệu (k_{cat}/K_m) là thước đo mức độ cơ chất bị cắt bởi proteaza cụ thể. Ví dụ, tetrapeptit ACC hoặc AMC như Ac-CPGR-AMC có thể được tạo ra và ủ với polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này và hoạt tính của polypeptit u-PA có thể được đánh giá bằng cách thử nghiệm để giải phóng gốc flogen. Việc lựa chọn tetrapeptit phụ thuộc vào trình tự phân cắt mong muốn để nhắm đích và có thể được xác định theo kinh nghiệm.

Theo các phương án khác, polypeptit u-PA cũng có thể được thử nghiệm để chắc chắn rằng, khi ở dạng hoạt tính, chúng phân cắt trình tự mong muốn khi được biểu diễn trong ngữ cảnh của protein có chiều dài đầy đủ. Trong một ví dụ, một protein đích tinh khiết, tức là plasminogen, có thể được ủ với sự có mặt hoặc không có polypeptit u-PA đã chọn và sự kiện phân cắt có thể được theo dõi bằng SDS-PAGE, sau đó nhuộm Coomassie Brilliant Blue để tìm protein và phân tích sự phân cắt các sản phẩm sử dụng phương pháp đo mật độ.

b. Thử nghiệm hoạt hóa plasminogen

Thử nghiệm bất kỳ đã biết đến với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đều có thể được sử dụng để xác định xem polypeptit u-PA có hoạt hóa plasminogen hay không. Trong một ví dụ, sự hoạt hóa của plasminogen có thể được xác định bằng cách ủ polypeptit với sự có mặt của plasminogen và cơ chất plasmin có thể phát hiện được, ví dụ như cơ chất sinh màu HD-Val-Leu-Lys-p-nitroanalit (Chromogenix S-2251) hoặc cơ chất flogen HD-Val-Leu-Lys-7-amido-4-metylcoumarin. Sau đó, quá trình thủy phân được theo dõi bằng cách đo độ hấp thụ ở bước sóng 405 nm hoặc bằng cách phát hiện huỳnh quang bằng cách sử dụng đầu đọc tấm huỳnh quang với bước sóng kích thích 390 nm và bước sóng phát xạ 480 nm. Trong ví dụ khác, sự hoạt hóa plasminogen được đánh giá trong khi polypeptit u-PA được liên kết với uPAR. Trong ví dụ này, polypeptit u-PA đầu tiên được liên kết với uPAR trên bề mặt tế bào, như tế bào U397, sau đó là bổ sung plasminogen và cơ chất plasmin có thể phát hiện và quá trình thủy phân được đo như được mô tả ở trên.

c. Thử nghiệm liên kết u-PA-uPAR

Liên kết của polypeptit u-PA với uPAR có thể được đánh giá bằng thử nghiệm bất kỳ được biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực để phát hiện tương tác liên kết protein-protein, bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, thử nghiệm liên kết pha rắn, ELISA, cộng hưởng plasmon bề mặt và FACS. Theo một ví dụ, ELISA có thể được sử dụng. UPAR tái tổ hợp được cố định trên đĩa microtiter và liên kết polypeptit u-PA được đánh giá bằng cách thêm thuốc thử liên kết đặc hiệu với u-PA, như kháng gen liên kết u-PA. Trong một ví dụ khác, liên kết có thể được xác định trong một thử nghiệm dựa trên tế bào bằng cách sử dụng một dòng tế bào, như tế bào U397, biểu hiện thụ thể u-PA. Các polypeptit u-PA có thể được dán nhãn, ví dụ, với chất tạo màu, tạo fluor hoặc chất phóng xạ để phát hiện hiệu quả liên kết.

d. Sự phân cắt C3

Hoạt tính của các polypeptit uPA biến đổi có thể được đánh giá bằng sự phân cắt của cơ chất bổ sung protein người C3 bằng cách đo lượng C3 nguyên vẹn của người còn lại sau khi ủ với các nồng độ khác nhau của uPA proteaza đã biến đổi. Theo thử nghiệm này, tín hiệu được tạo ra khi có C3 nguyên vẹn của con người, và bị mất khi C3 bị phân cắt. Trong các ví dụ khác, thử nghiệm hoạt hóa C3 được sử dụng để xác định độ đặc hiệu của polypeptit uPA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này.

Protein C3 tinh chế có thể được ủ với polypeptit u-PA biến đổi và mức độ còn lại của C3 chưa tiêu hóa ở người có thể được định lượng bằng thử nghiệm bất kỳ đã biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này để đánh giá nồng độ protein, như sử dụng màn hình xét nghiệm đồng nhất phát quang khuếch đại (AlphaScreen®; Perkin Elmer). Hỗn hợp polypeptit C3/uPA được ủ với hạt tiếp nhận α-chuột được phủ IgG, và sau khi ủ, hỗn hợp hạt nhận α-hC3 mAb/được ủ với α-hC3 pAb được đánh giá sinh học. Sau đó, hạt của thể cho phủ Streptavidin được bổ sung vào hỗn hợp và tín hiệu 'màn hình alpha' (kích thích = 680 nm, phát xạ = 570 nm) sau đó được đo. Tín hiệu này tương ứng với nồng độ của protein C3 còn lại. Có thể tính được nồng độ của polypeptit uPA để phân cắt qua 50% hC3 có sẵn (EC_{50}).

ACC-AGR + ELISA

Sáng chế đề xuất phương pháp đánh giá độ đặc hiệu cơ chất của polypeptit u-PA biến đổi. Việc sử dụng cơ chất peptit tạo flo, như cơ chất peptit tạo flo 7-amino-4-

metylcoumarin (AMC) hoặc cơ chất peptit flogen 7-amino-4-carbamoylmethylcoumarin (ACC), có thể được sử dụng để kiểm tra hoạt tính của một proteaza đã được biến đổi, theo đó một gốc flogen được giải phóng từ cơ chất peptide khi tác động của proteaza, và sự giải phóng gốc flogen có thể được xác định như một thước đo độ đặc hiệu của proteaza đối với trình tự phân cắt peptide. Tốc độ tăng huỳnh quang của trình tự phân cắt cơ chất không đích hoặc trình tự phân cắt mục tiêu có thể được đo bằng cách sử dụng máy quang phổ huỳnh quang. Tốc độ tăng huỳnh quang có thể được đo lường theo thời gian. Hằng số động học Michaelis-Menton có thể được xác định bằng các phương pháp động học tiêu chuẩn. Các hằng số động học k_{cat}, K_m và k_{cat}/K_m có thể được tính toán bằng cách vẽ đồ thị nghịch đảo của nồng độ cơ chất so với nghịch đảo của vận tốc phân cắt cơ chất và phù hợp với phương trình Lineweaver-Burk (1/vận tốc = (K_m/V_{max}) (1/[S]) + 1 /V_{max}; trong đó V_{max}= [ET]k_{cat}). Hằng số độ đặc hiệu (k_{cat}/K_m) là thước đo mức độ cơ chất được cắt tốt như thế nào bởi một proteaza cụ thể.

Theo một ví dụ, bất kỳ một hoặc nhiều trình tự phân cắt của protein bổ thể có thể được xác định và sử dụng làm trình tự phân cắt mục tiêu mong muốn. Ví dụ, bất kỳ một hoặc nhiều trình tự phân cắt C3. Trong một ví dụ khác, một trình tự tương ứng với cơ chất của proteaza kiểu dại có thể được sử dụng để kiểm tra hoạt tính của proteaza còn lại.

Theo phương án bổ sung, protein bổ thể có chiều dài đầy đủ có thể được sử dụng làm cơ chất đích để thử nghiệm độ đặc hiệu của proteaza so với cơ chất đích tự nhiên có chiều dài đầy đủ của proteaza. Hơn nữa, protein bổ thể có chiều dài đầy đủ có thể được sử dụng để đánh giá mối tương quan giữa độ đặc hiệu của cơ chất và sự phân cắt bởi proteaza của cơ chất đích có chiều dài đầy đủ so với trình tự phân cắt cơ chất P1-P4 bốn axit amin chứa trong cơ chất đích. Trong một ví dụ, protein C3 có chiều dài đầy đủ có thể được sử dụng làm đích phân cắt mong muốn của một hoặc nhiều proteaza bất kỳ để đánh giá độ đặc hiệu. Trong ví dụ này, sự phân cắt của C3 bởi proteaza biến đổi có thể được so sánh với sự phân cắt của cơ chất có chiều dài đầy đủ khác, hoặc sự phân cắt có thể được so sánh với trình tự phân cắt tetrapeptit flogen của C3. Hằng số đặc hiệu của sự phân cắt của protein có chiều dài đầy đủ bởi proteaza có thể được xác định bằng cách sử dụng phương pháp đo mật độ gel để đánh giá thay đổi trong phép đo mật độ theo thời gian của dải cơ chất đích có chiều dài đầy đủ được ủ khi có mặt proteaza.

Theo phương án bổ sung, hoạt tính của polypeptit u-PA biến đổi có thể được đánh giá sau khi ủ kéo dài trong huyết tương cynomolgus hoặc dịch thủy tinh. Theo một ví dụ, hoạt tính proteaza còn lại được thử nghiệm với cơ chất flogen AGR-ACC (7-amino-4-carbamoylmethyl-coumarin) sau khi ủ trong dịch thủy tinh 80% Cynomolgus. Ví dụ, polypeptit u-PA được biến đổi của SEQ ID NO: 21 thể hiện khả năng tương đương để phân cắt cơ chất tạo fluor AGR-ACC sau 7 ngày ủ trong dịch thủy tinh và PBS. Trong một ví dụ khác, polypeptit u-PA được sửa đổi của SEQ ID NO: 21 phân cắt cơ chất tạo fluor AGR-ACC ở các mức độ tương tự trước và sau khi ủ 7 ngày trong dịch thủy tinh.

Đánh giá độ đặc hiệu bằng cách sử dụng thư viện peptit

Sáng chế đề xuất phương pháp đánh giá độ đặc hiệu của cơ chất của polypeptit u-PA biến đổi thu được bằng cách sử dụng thư viện peptit được kết hợp với peptit tạo flo. Polypeptit u-PA biến đổi có thể được xác minh về độ đặc hiệu của cơ chất P1-P4 tại vị trí phụ bất kỳ bằng cách sử dụng thư viện peptit được kết hợp với cơ chất tạo flogen (Harris *et al.*, (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97:7754; US 2004/0175777; US 2004/0146938). Việc sử dụng thư viện peptit hoặc các thư viện peptit cho phép xác định cơ chất phân giải protein nhanh chóng và dễ dàng. Chiến lược này liên quan đến việc sử dụng thư viện peptit theo đó một vị trí trong thư viện được giữ không đổi (tức là vị trí P1), trong khi vị trí còn lại (ví dụ, P4-P2 và/hoặc P1' và/hoặc P2') bao gồm tất cả các tổ hợp của axit amin được sử dụng để chuẩn bị thư viện. Việc sử dụng thư viện cơ chất peptit flogen sinh tổ hợp, ví dụ như cơ chất peptit flogen 7-amino-4-metylcoumarin (AMC) hoặc cơ chất peptit flogen 7-amino-4-carbamoylmetylcoumarin (ACC), có thể được sử dụng để thử nghiệm hoạt động của proteaza biến đổi, theo đó gốc flogen được giải phóng khỏi cơ chất peptit khi tác động của proteaza. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ đánh giá cao rằng các phương pháp này cung cấp nhiều định dạng thư viện thay thế. Trong một ví dụ, proteaza có thể được định hình với thư viện đa dạng P1. Thư viện tetrapeptit đa dạng P1 chứa tetrapeptit flogen ACC hoặc AMC theo đó vị trí P1 được giữ không đổi một cách có hệ thống trong khi vị trí P2, P3 và P4 chứa hỗn hợp đồng cực của bất kỳ một hoặc nhiều hơn trong số 15 axit amin. Việc xác định và xem xét giới hạn cụ thể liên quan đến enzym cụ thể bất kỳ hoặc phương pháp xác định độ đặc hiệu của trình tự cơ chất nằm trong khả năng của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này nhận ra rằng tồn tại nhiều phương pháp để điều chế peptit. Theo một phương án làm ví dụ, thư viện cơ chất được sàng lọc bằng cách gắn cơ chất được gắn thẻ flogen vào một giá đỡ vững chắc. Trong một ví dụ, nhóm rời flogen từ peptit cơ chất được tổng hợp bằng cách ngưng tụ một dẫn xuất coumarin N-Fmoc, đến gen liên kết Rink không bền axit để cung cấp nhựa ACC (Backes và cộng sự, (2000) Nat Biotechnol. 18: 187). Quá trình khử fmoc tạo ra amin tự do. Các axit amin tự nhiên, không tự nhiên và biến đổi có thể được kết hợp với amin, có thể được tạo thành bằng cách kết hợp các axit amin bổ sung. Trong một phương án khác, nhóm rời khỏi flogen có thể là 7-amino-4-methylcoumarin (AMC) (Harris và cộng sự, (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 97: 7754). Sau khi quá trình tổng hợp peptit hoàn tất, liên hợp gốc peptit-flogen có thể bị tách khỏi chất hỗ trợ rắn, hoặc theo cách khác, liên hợp có thể vẫn được kết dính với chất hỗ trợ rắn.

Thông thường, phương pháp điều chế peptit flogen hoặc nguyên liệu bao gồm peptit flogen bao gồm: (a) tạo thể liên hợp thứ nhất chứa gốc flogen được liên kết cộng hóa trị với giá đỡ vững chắc; (b) cho liên hợp thứ nhất tiếp xúc với gốc axit amin được bảo vệ đầu tiên và chất hoạt hóa, do đó tạo thành liên kết peptit giữa nhóm carboxyl và nitơ amin của thể liên hợp thứ nhất; (c) khử bảo vệ, do đó tạo thành thể liên hợp thứ hai có gốc amin phản ứng; (d) cho thể liên hợp thứ hai tiếp xúc với axit amin được bảo vệ thứ hai và chất hoạt hóa, do đó tạo thành liên kết peptit giữa nhóm carboxyl và gốc amin phản ứng; và (e) khử bảo vệ, do đó tạo thành thể liên hợp thứ ba có gốc amin phản ứng. Theo phương án làm ví dụ, phương pháp còn bao gồm: (f) cho chất liên hợp thứ ba tiếp xúc với axit amin được bảo vệ thứ ba và chất hoạt hóa, do đó tạo thành liên kết peptit giữa nhóm cacboxyl và gốc amin phản ứng; và (e) khử bảo vệ, do đó tạo thành thể liên hợp thứ tư có gốc amin phản ứng.

Đối với axit amin khó kết đôi (ví dụ, Ile, Val, v.v.), amin tự do, không phản ứng có thể vẫn ở trên hỗ trợ và làm phức tạp các hoạt động tổng hợp và thử nghiệm tiếp theo. Một bước giới hạn chuyên biệt sử dụng este hoạt động 3-nitrotriazole của axit axetic trong DMF sẽ acyl hóa anilin còn lại một cách hiệu quả. Coumarin có giới hạn axit axetic tạo thành có thể có trong dung dịch trình tự cơ chất không được tinh chế thường không phải là trình tự cơ chất proteaza.

Tổng hợp peptit pha rắn trong đó axit amin đầu tận C của trình tự được gắn vào chất hỗ trợ không hòa tan, sau đó bổ sung liên tiếp các axit amin còn lại trong trình tự

là một phương pháp được lấy làm ví dụ để điều chế xương sống peptit của polypeptit được đề xuất trong bản mô tả này. Các kỹ thuật tổng hợp pha rắn được mô tả bởi Narany and Merrifield, Solid-Phase Peptide Synthesis; pp.3-284 in The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology. Vol. 2; Special Methods in Peptide Synthesis, Part A., Gross and Meienhofer, eds. Academic press, N.Y., (1980); and Stewart *et al.*, (1984) Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed. Pierce Chem. Co., Rockford, Ill. Tổng hợp pha rắn được thực hiện dễ dàng nhất với các chất tổng hợp peptit bán sẵn trên thị trường sử dụng hóa học Fmoc hoặc t-BOC.

Ví dụ, tổng hợp peptit có thể được thực hiện bằng cách sử dụng hóa học tổng hợp Fmoc đã biết đến. Ví dụ, chuỗi bên của Asp, Ser, Thr và Tyr được bảo vệ bằng cách sử dụng t-butyl và chuỗi bên của gốc Cys bằng cách sử dụng S-trityl và St-butylthio, và gốc Lys được bảo vệ bằng cách sử dụng t-Boc, Fmoc và 4 -metyltrityl. Thuốc thử axit amin được bảo vệ thích hợp có sẵn trên thị trường hoặc có thể được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp được công nhận trong lĩnh vực kỹ thuật. Việc sử dụng nhiều nhóm bảo vệ cho phép giải phong bế chọn lọc và ghép nối flophor với chuỗi bên mong muốn cụ thể bất kỳ. Vì vậy, ví dụ, khử bảo vệ t-Boc được thực hiện bằng cách sử dụng TFA trong diclometan. Quá trình khử bảo vệ Fmoc được thực hiện bằng cách sử dụng, ví dụ, 20% (thể tích/thể tích) piperidin trong DMF hoặc N-metylpyrolidon, và việc khử bảo vệ 4-metyltrityl được thực hiện bằng cách sử dụng, ví dụ, 1 đến 5% (thể tích/thể tích) TFA trong nước hoặc 1% TFA và 5% triisopropylsilan trong DCM. Việc khử bảo vệ A-t-butylthio được thực hiện bằng cách sử dụng, ví dụ, mercaptoetanol có nước (10%). Việc loại bỏ nhóm t-butyl, t-boc và S-trityl được thực hiện bằng cách sử dụng, ví dụ, TFA:phenol:nước:thio¬aniso:etandithio (85:5:5:2,5:2,5), hoặc TFA:phenol:nước (95:5:5).

Sự đa dạng ở vị trí cụ thể bất kỳ hoặc sự kết hợp của các vị trí có thể được tạo ra bằng cách sử dụng hỗn hợp của ít nhất hai, sáu, 12, 20 hoặc nhiều axit amin để phát triển chuỗi peptit. Hỗn hợp các axit amin có thể bao gồm bất kỳ lượng hữu ích nào của một axit amin cụ thể kết hợp với bất kỳ lượng hữu ích nào của một hoặc nhiều axit amin khác nhau. Theo một phương án, hỗn hợp này là hỗn hợp đẳng động học của các axit amin (hỗn hợp theo tỷ lệ thích hợp để cho khả năng phản ứng theo số mol bằng nhau của tất cả các thành phần). Proteaza đã biến tính, như proteaza u-PA được sửa đổi được mô tả trong bản mô tả này, có thể được thử nghiệm bằng cách sử dụng các cơ chất peptit

flogen riêng lẻ tương ứng với trình tự phân cắt mong muốn. Phương pháp thử nghiệm đối với một proteaza đã biến đổi có thể phân cắt bất kỳ một hoặc nhiều trình tự phân cắt C3 bao gồm: (a) tiếp xúc với mẫu peptit flogen (chứa trình tự phân cắt C3) với proteaza, theo cách như vậy, theo đó một gốc fluoro sinh ra là được giải phóng từ trình tự cơ chất peptit khi tác động của proteaza, do đó tạo ra một gốc huỳnh quang; và (b) quan sát xem mẫu có trải qua sự thay đổi huỳnh quang có thể phát hiện được hay không, sự thay đổi có thể phát hiện được là một dấu hiệu cho thấy sự hiện diện của proteaza hoạt động về mặt enzym trong mẫu. Trong một ví dụ như vậy, một ACC- hoặc AMC- tetrapeptit như Ac-AGR-AMC có thể được tạo ra và ủ với một proteaza biến đổi và hoạt tính của proteaza có thể được đánh giá bằng cách thử nghiệm để giải phóng gốc tạo flo.

Thử nghiệm cho proteaza trong dung dịch chỉ cần bổ sung lượng dung dịch gốc của proteaza vào peptit chỉ thị proteaza flogen và đo sự gia tăng huỳnh quang sau đó hoặc giảm dải kích thích trong phổ hấp thụ. Dung dịch và chất chỉ thị flogen cũng có thể được kết hợp và thử nghiệm trong "dung dịch đệm phân hủy" tối ưu hóa hoạt tính của proteaza. Dung dịch đệm thích hợp để thử nghiệm hoạt tính của proteaza được biết đến với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Nói chung, dung dịch đệm được chọn có độ pH tương ứng với độ pH tối ưu của proteaza cụ thể. Ví dụ, dung dịch đệm đặc biệt thích hợp để đánh giá hoạt tính của elastaza chứa natri photphat 50mM, EDTA 1 mM ở pH 8,9. Phép đo này được thực hiện dễ dàng nhất trong máy đo flo, dụng cụ cung cấp nguồn sáng "kích thích" cho flophor và sau đó đo ánh sáng phát ra sau đó ở bước sóng cụ thể. So sánh với dung dịch chỉ thị đối chứng thiếu proteaza cung cấp thước đo hoạt tính của proteaza. Mức độ hoạt tính có thể được định lượng chính xác bằng cách tạo đường cong chuẩn cho hỗn hợp proteaza/chỉ thị trong đó tốc độ thay đổi huỳnh quang tạo ra bởi dung dịch proteaza có hoạt tính đã biết được xác định.

Trong khi việc phát hiện hợp chất tạo flo có thể được thực hiện bằng cách sử dụng máy đo fluo, việc phát hiện cũng có thể được thực hiện bằng nhiều phương pháp khác được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết đến. Vì vậy, ví dụ, khi các fluorophores phát ra ở bước sóng nhìn thấy, việc phát hiện có thể đơn giản bằng cách kiểm tra trực quan sự phát huỳnh quang phản ứng với sự kích thích của nguồn sáng. Việc phát hiện cũng có thể nhờ hệ thống phân tích hình ảnh sử dụng máy quay video được giao tiếp với bộ số hóa hoặc hệ thống thu nhận hình ảnh khác. Việc phát hiện cũng có thể bằng hình ảnh thông qua một bộ lọc, như dưới kính hiển vi huỳnh

quang. Kính hiển vi có thể cung cấp một tín hiệu mà người vận hành có thể nhìn thấy một cách đơn giản. Ngoài ra, tín hiệu có thể được ghi lại trên màng hoặc sử dụng hệ thống phân tích video. Tín hiệu cũng có thể được định lượng một cách đơn giản trong thời gian thực bằng cách sử dụng hệ thống phân tích hình ảnh hoặc quang kế.

Do đó, ví dụ, thử nghiệm cơ bản đối với hoạt tính proteaza của mẫu bao gồm việc tạo huyền phù hoặc hòa tan mẫu trong dung dịch đệm (ở độ pH tốt nhất của proteaza cụ thể đang được thử nghiệm) hoặc trong điều kiện kiểm tra (ví dụ, dịch thủy tinh hoặc huyết thanh), bổ sung vào dung dịch đệm chất chỉ thị peptit proteaza flogen, và theo dõi sự thay đổi kết quả của huỳnh quang bằng cách sử dụng máy đo quang phổ như được thể hiện trong ví dụ, Harris *et al.*, (1998) *J Biol Chem* 273:27364. Máy đo quang phổ được thiết lập để kích thích flophor ở bước sóng kích thích của flophor. Chất chỉ thị proteaza flogen là trình tự cơ chất của proteaza thay đổi huỳnh quang do proteaza phân cắt chất chỉ thị.

Proteaza biến đổi cũng được thử nghiệm để chắc chắn rằng chúng sẽ phân cắt trình tự mong muốn khi được biểu diễn trong ngữ cảnh của protein có chiều dài đầy đủ. Các protein cơ chất đích chứa vị trí phân cắt C3 nằm ở vị trí phân cắt hoạt hóa hoặc vị trí hoạt động của C3. Các phương pháp đánh giá sự phân cắt của protein đích được mô tả trong bản mô tả này và/hoặc được biết đến nhiều trong lĩnh vực này. Trong một ví dụ, protein bổ thể tinh khiết, ví dụ C3, có thể được ủ trong môi trường có hoặc không có proteaza biến đổi và sự kiện phân cắt có thể được theo dõi bằng SDS-PAGE, sau đó nhuộm Coomassie Brilliant Blue để tìm protein và phân tích các sản phẩm phân cắt bằng cách sử dụng đo mật độ. Hoạt tính của protein đích cũng được thử nghiệm, như, chẳng hạn trong xét nghiệm tán huyết, sử dụng các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này hoặc phương pháp đã được biết đến trong lĩnh vực này, để xác minh rằng chức năng của nó đã bị phá hủy bởi sự kiện phân cắt.

3. Độ đặc hiệu

Hằng số đặc hiệu của sự phân cắt của cơ chất đích, ví dụ, protein bổ thể C3 hoặc plasminogen, bởi polypeptit u-PA biến đổi có thể được xác định bằng cách sử dụng phương pháp đo mật độ gel để đánh giá thay đổi về đo mật độ theo thời gian của cơ chất đích có chiều dài đầy đủ được ủ khi có mặt polypeptit u-PA. Theo phương án cụ thể, việc so sánh đặc điểm cụ thể của polypeptit u-PA biến đổi có thể được sử dụng để xác

định xem polypeptit u-PA biến đổi có biểu hiện thay đổi hay không, ví dụ, tăng, độ đặc hiệu cho C3 so với polypeptit u-PA kiểu dại. Độ đặc hiệu của polypeptit u-PA đối với cơ chất đích, ví dụ, protein bổ thể C3, có thể được xác định từ hằng số phân cắt đặc hiệu của cơ chất đích so với cơ chất không đích (ví dụ cơ chất kiểu dại tự nhiên của u-PA). Tỷ lệ giữa hằng số đặc hiệu của polypeptit u-PA biến đổi cho cơ chất đích C3 so với cơ chất không phải đích, như plasminogen, có thể được thực hiện để xác định tỷ lệ hiệu quả phân cắt polypeptit u-PA biến đổi. So sánh tỷ lệ hiệu quả phân cắt giữa polypeptit u-PA biến đổi và polypeptit u-PA kiểu dại có thể được sử dụng để đánh giá sự thay đổi lần lượt về độ đặc hiệu của cơ chất đích. Độ đặc hiệu có thể gấp ít nhất 2 lần, ít nhất 4 lần, ít nhất 5 lần, ít nhất 6 lần, ít nhất 7 lần, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 hoặc 1000 lần hoặc hơn khi so sánh với độ đặc hiệu của polypeptit u-PA kiểu dại cho cơ chất đích so với cơ chất không phải đích.

Phân tích động học sự phân cắt của cơ chất tự nhiên của polypeptit u-PA có thể được so sánh với phân tích sự phân cắt của các cơ chất mục tiêu mong muốn trong protein bổ thể C3 để đánh giá độ đặc hiệu của polypeptit u-PA đã biến đổi cho protein bổ thể C3. Hằng số tốc độ bậc hai của sự ức chế (ki) có thể được đánh giá để theo dõi hiệu quả và khả năng phản ứng của polypeptit u-PA được biến đổi đối với protein bổ thể C3. Đối với các mục đích trong bản mô tả này, polypeptit u-PA được biến đổi sẽ phân cắt C3 để quá trình hoạt hóa bổ thể bị ức chế, và như được trình bày trong các Ví dụ, chúng làm như vậy với hoạt tính lớn hơn đáng kể, như hoạt tính gấp ít nhất 5 lần so với u- polypeptit không được biến đổi PA (hoặc polypeptit u-PA được sửa đổi bằng chất thay thế C122S, loại bỏ xystein tự do để giảm sự kết tụ). Ví dụ, polypeptit u-PA được sửa đổi của SEQ ID NO: 21 phân cắt C3 của người trong xét nghiệm được mô tả trong bản mô tả này với EC50 là 19 nM, so với 3380 nM đối với miền proteaza kiểu dại của SEQ ID NO: 5.

4. Mẫu bệnh

Polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sử dụng trong bất kỳ mô hình bệnh nào có liên quan về mặt lâm sàng được biết đến với một hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này để xác định ảnh hưởng của chúng đối với các bệnh hoặc rối loạn qua trung gian bổ thể. Các thử nghiệm mẫu bao gồm, nhưng không giới hạn, các thử nghiệm để cấy ghép, bao gồm các thử nghiệm *in vitro* với tế bào đảo nhỏ của người (Tjernberg *et al.* (2008) *Transplantation* 85:1193-1199) và thử nghiệm

ex vivo với thận lợn (Fiane *et al.* (1999) *Xenotransplantation* 6:52-65); khả năng tương thích sinh học, bao gồm cả tình trạng viêm do bề mặt nhân tạo *in vitro* (Lappegard *et al.* (2008) *J Biomed Mater Res A* 87:129-135; Lappegard *et al.* (2005) *Ann Thorac Surg* 79:917-923; Nilsson *et al.* (1998) *Blood* 92:1661-1667; Schmidt *et al.* (2003) *J Biomed Mater Res A* 66:491-499); viêm, bao gồm viêm do *E. coli in vitro* (Mollnes *et al.* (2002) *Blood* 100:1867-1877) và viêm do phức hợp heparin/protamine ở khỉ đầu chó (Soulika *et al.* (2000) *Clin Immunol* 96:212-221); thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi ở thỏ và khỉ và động vật gặm nhấm (Chi *et al.* (2010) *Adv Exp Med Biol* 703:127-135; Pennesi *et al.* (2012) *Mol. Aspects Med.* 33(4):487-509; Fletcher *et al.* (2014) *Optm. Vis. Sci.* 91(8):878-886; Forest *et al.*, (2015) *Disease Models and Mechanisms* 8:421-427); và chức năng ghép chậm ở lợn (Hanto *et al.*, (2010) *Am J Transplant* 10(11):2421-2430) và chó (Petrinec *et al.*, (1996) *Surgery* 61:1331-1337).

F. Phương pháp sản xuất axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA biến đổi của nó

Polypeptit của polypeptit u-PA biến đổi được nêu trong bản mô tả này có thể thu được bằng phương pháp đã biết trong lĩnh vực để tinh chế protein và biểu hiện protein tái tổ hợp. Polypeptit cũng có thể được tổng hợp hóa học. Biến đổi hoặc biến thể, bao gồm dạng cụt, có thể được xử lý từ polypeptit kiểu dại sử dụng phương pháp ADN tái tổ hợp tiêu chuẩn. Ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi có thể được xử lý từ polypeptit kiểu dại, như bằng cách gây đột biến theo vị trí.

1. Phân lập hoặc điều chế axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA

Polypeptit có thể được nhân dòng hoặc phân lập bằng cách sử dụng phương pháp sẵn có bất kỳ được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật để nhân dòng và phân lập các phân tử axit nucleic. Các phương pháp này bao gồm PCR khuếch đại axit nucleic và sàng lọc thư viện, bao gồm sàng lọc lai axit nucleic, sàng lọc dựa trên kháng thể và sàng lọc dựa trên hoạt động. Ví dụ, khi polypeptit được tạo ra bằng phương pháp tái tổ hợp, thì có thể sử dụng bất kỳ phương pháp nào mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết để xác định các axit nucleic mã hóa các gen mong muốn. Bất kỳ phương pháp nào có sẵn trong lĩnh vực này đều có thể được sử dụng để thu được độ dài đầy đủ hoặc một phần (tức là bao gồm toàn bộ vùng mã hóa) cDNA hoặc bản sao ADN bộ gen mã hóa u-PA, như từ nguồn tế bào hoặc mô.

Phương pháp khuếch đại axit nucleic có thể được sử dụng để phân lập phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit mong muốn, bao gồm ví dụ phương pháp phản ứng chuỗi polymeraza (PCR). Ví dụ của phương pháp này bao gồm sử dụng bộ tuần hoàn nhiệt Perkin-Elmer Cetus và Taq polymeraza (Gene Amp). Nguyên liệu chứa axit nucleic có thể được sử dụng làm nguyên liệu ban đầu để từ đó phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit mong muốn có thể được phân lập. Ví dụ, chế phẩm ADN và mARN, chiết xuất tế bào, chiết xuất mô, mẫu dịch lỏng (ví dụ máu, huyết thanh, nước bọt) và mẫu từ đối tượng khỏe mạnh và/hoặc bị bệnh có thể được sử dụng trong phương pháp khuếch đại. Nguồn có thể từ loài sinh vật nhân chuẩn bất kỳ bao gồm nhưng không bị giới hạn ở động vật có xương sống, động vật có vú, người, lợn, bò, mèo, gia cầm, ngựa, chó và các nguồn linh trưởng khác. Thư viện axit nucleic cũng có thể được sử dụng như nguồn nguyên liệu ban đầu. Đoạn mồi có thể được thiết kế để khuếch đại polypeptit mong muốn. Ví dụ, đoạn mồi có thể được thiết kế dựa trên trình tự biểu hiện mà từ đó polypeptit mong muốn được tạo ra. Đoạn mồi có thể được thiết kế dựa trên sự dịch mã ngược của chuỗi axit amin polypeptit. Nếu muốn, đoạn mồi thoái hóa có thể được sử dụng để khuếch đại. Đoạn mồi oligonucleotit lai với trình tự ở đầu tận 3' và 5' của trình tự mong muốn có thể được sử dụng làm đoạn mồi để khuếch đại bằng trình tự PCR từ mẫu axit nucleic. Đoạn mồi có thể được sử dụng để khuếch đại toàn bộ u-PA có chiều dài đầy đủ hoặc trình tự bị cắt ngắn của chúng, như axit nucleic mã hóa bất kỳ trong số các polypeptit u-PA hòa tan được đề xuất trong bản mô tả này. Phân tử axit nucleic được tạo ra bằng cách khuếch đại có thể được giải trình tự và xác nhận để mã hóa polypeptit mong muốn.

Trình tự nucleotit bổ sung có thể được nối với phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit, bao gồm trình tự liên kết chứa vị trí endonucleaza giới hạn nhằm mục đích nhân dòng gen tổng hợp thành vectơ, ví dụ, vectơ biểu hiện protein hoặc vectơ được thiết kế để khuếch đại lõi protein mã hóa trình tự ADN. Hơn nữa, các trình tự nucleotide bổ sung chỉ định các phần tử ADN chức năng có thể được liên kết hoạt động với phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit. Ví dụ về trình tự như vậy bao gồm, nhưng không giới hạn, trình tự khởi động được thiết kế để tạo điều kiện thuận lợi cho sự biểu hiện protein nội bào và trình tự tiết, ví dụ chuỗi tín hiệu dị hợp, được thiết kế để tạo điều kiện tiết protein. Trình tự như vậy được biết đến với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực nghệ thuật. Các trình tự dư lượng nucleotide bổ sung như trình tự các base xác

định vùng liên kết protein cũng có thể được liên kết với các phân tử axit nucleic mã hóa enzyme. Những vùng như vậy bao gồm, nhưng không giới hạn ở, trình tự của các gốc tạo điều kiện hoặc mã hóa các protein tạo điều kiện hấp thu enzym vào các tế bào đích cụ thể, hoặc thay đổi dược động học của một sản phẩm của gen tổng hợp.

Ví dụ, thẻ và/hoặc các thành phần khác có thể được thêm vào để hỗ trợ phát hiện hoặc làm sạch ái lực của polypeptit. Ví dụ, các trình tự dư lượng nucleotide bổ sung như trình tự các bazơ chỉ định thẻ epitope hoặc dấu hiệu có thể phát hiện khác cũng có thể được liên kết với các phân tử axit nucleic mã hóa enzyme. Ví dụ về các trình tự như vậy bao gồm trình tự axit nucleic mã hóa thẻ SUMO hoặc thẻ His hoặc thẻ Flag.

Sau đó, axit nucleic đã xác định và phân lập có thể được đưa vào vectơ nhân dòng thích hợp. Có thể sử dụng một số lượng lớn các hệ thống vectơ vật chủ đã biết đến trong lĩnh vực này. Vectơ có thể bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, plasmit hoặc virut biến đổi, nhưng hệ thống vectơ phải tương thích với tế bào chủ được sử dụng. Vectơ này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, vi khuẩn như dẫn xuất lambda, hoặc plasmit như dẫn xuất pCMV4, pBR322 hoặc pUC plasmit hoặc vectơ Bluescript (Stratagene, La Jolla, CA). Ví dụ, việc chèn vào vectơ nhân dòng có thể được thực hiện bằng cách gắn mảnh ADN vào vectơ nhân dòng có đầu tận gắn kết bổ thể. Việc chèn có thể được thực hiện bằng cách sử dụng vectơ nhân dòng TOPO (Invitrogen, Carlsbad, CA).

Nếu vị trí giới hạn bổ thể được sử dụng để phân mảnh ADN không có trong vectơ nhân dòng, các đầu của phân tử ADN có thể được sửa đổi bằng enzym. Ngoài ra, bất kỳ vị trí nào mong muốn đều có thể được tạo ra bằng cách sắp xếp trình tự nucleotide (trình tự liên kết) lên termini ADN; các trình tự liên kết xếp nếp này có thể chứa các oligonucleotit được tổng hợp hóa học cụ thể mã hóa trình tự nhận dạng endonuclease hạn chế. Trong một phương pháp khác, gen protein và vectơ đã phân cắt có thể được sửa đổi bằng cách gắn đuôi homopolyme.

Phân tử tái tổ hợp có thể được đưa vào tế bào chủ, ví dụ, thông qua biến nạp, chuyển nạp, nhiễm trùng, kết hợp điện và kết hợp, để tạo ra nhiều bản sao của trình tự gen. Theo các phương án cụ thể, sự biến đổi tế bào chủ bằng phân tử ADN tái tổ hợp kết hợp gen protein phân lập, cDNA hoặc trình tự ADN tổng hợp cho phép tạo ra nhiều bản sao của gen. Do đó, gen có thể được thu nhận với số lượng lớn bằng cách phát triển

các chất biến nạp, cô lập các phân tử ADN tái tổ hợp từ các chất biến nạp và khi cần thiết, lấy gen đã chèn đoạn từ ADN tái tổ hợp đã phân lập.

Ngoài quá trình sản xuất tái tổ hợp, polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sản xuất bằng cách tổng hợp peptit trực tiếp sử dụng kỹ thuật pha rắn (xem ví dụ, Stewart *et al.* (1969) Solid-Phase Peptide Synthesis, WH Freeman Co., San Francisco; Merrifield J (1963) *J Am Chem Soc.*, 85:2149-2154). Quá trình tổng hợp protein in vitro có thể được thực hiện bằng kỹ thuật thủ công hoặc bằng cách tự động hóa. Có thể đạt được quá trình tổng hợp tự động, ví dụ, sử dụng Bộ tổng hợp Peptide 431A Hệ sinh học Ứng dụng (Perkin Elmer, Foster City CA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các mảnh polypeptit khác nhau có thể được tổng hợp hóa học riêng rẽ và kết hợp với nhau sử dụng phương pháp hóa học.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp biểu hiện dạng hoạt hóa hoặc đã hoạt hóa hoặc có thể hoạt hóa của polypeptit u-PA biến đổi, như dạng hoạt hóa hai chuỗi và dime. Như được thảo luận và mô tả trong bản mô tả này, và được lấy ví dụ trong ví dụ 14-16, protein dung hợp polypeptit u-PA biến đổi mã hóa axit nucleic có thể được điều chế. Axit nucleic mã hóa miền u-PA proteaza biến đổi, được liên kết với axit nucleic mã hóa các trình tự khác, bao gồm, nhưng bị giới hạn ở, tín hiệu tiết, ví dụ như trình tự tín hiệu u-PA, trình tự tín hiệu chuỗi IgG kapp, và trình tự tín hiệu IL-2, phần đầu tận N của u-PA (để sản xuất u-PA có độ dài đầy đủ), trình tự hoạt hóa, ví dụ như trình tự hoạt hóa u-PA hoặc trình tự furin, và đối tác dung hợp, như albumin, để thay đổi tính chất của u-PA, như thời gian bán hủy trong huyết thanh và/hoặc trình tự, như thẻ His và/hoặc SUMO để tăng biểu hiện và/hoặc tạo điều kiện cho việc phân lập. Các phân tử axit nucleic này có thể được biểu hiện trong tế bào chủ thích hợp, nổi tiếng với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, để sản xuất u-PA biến đổi và/hoặc protein dung hợp. Nói chung, axit nucleic mã hóa trình tự tín hiệu hoặc trình tự vận chuyển khác để tiết hoặc vận chuyển đến vị trí để tinh chế. Bao gồm axit nucleic mã hóa trình tự hoạt hóa có thể được sử dụng để tạo ra dạng hoạt hóa của polypeptit u-PA biến đổi.

2. Tạo ra axit nucleic đột biến hoặc biến đổi và mã hóa polypeptit

Biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được thực hiện bằng các kỹ thuật ADN tái tổ hợp tiêu chuẩn, như là một trong những kỹ năng thường xuyên trong lĩnh vực này. Có thể sử dụng bất kỳ phương pháp nào được biết đến trong lĩnh vực này

để gây đột biến một hoặc nhiều axit amin trong protein đích. Các phương pháp bao gồm gây đột biến hướng vào vị trí tiêu chuẩn (sử dụng ví dụ, một bộ kit, như QuikChange có sẵn từ Stratagene) mã hóa các phân tử axit nucleic hoặc bằng phương pháp tổng hợp polypeptit pha rắn.

3. Vectơ và tế bào

Để biểu hiện tái tổ hợp một hoặc nhiều protein mong muốn, như polypeptit u-PA được sửa đổi bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này, axit nucleic chứa tất cả hoặc một phần trình tự nucleotit mã hóa protein có thể được chèn vào vectơ biểu hiện thích hợp, tức là vectơ chứa các phần tử cần thiết để phiên mã và dịch mã trình tự mã hóa protein được chèn vào. Các tín hiệu phiên mã và dịch mã cần thiết cũng có thể được cung cấp bởi trình tự khởi động bản địa cho các gen enzyme và/hoặc các vùng bên của chúng.

Sáng chế cũng đề xuất vectơ chứa axit nucleic mã hóa enzym. Tế bào chứa vectơ cũng được đề xuất. Tế bào bao gồm tế bào nhân thực và tế bào nhân sơ, và vectơ là thích hợp bất kỳ để sử dụng trong đó. Nói chung, tế bào là tế bào có khả năng thực hiện quá trình glycosyl hóa protein đã mã hóa.

Tế bào nhân sơ và tế bào nhân thực chứa các vectơ được đề xuất. Các tế bào như vậy bao gồm tế bào vi khuẩn, tế bào nấm men, tế bào nấm, Archea, tế bào thực vật, tế bào côn trùng và tế bào động vật. Các tế bào được sử dụng để tạo ra một loại protein của chúng bằng cách phát triển các tế bào được mô tả ở trên trong các điều kiện theo đó protein được mã hóa được biểu hiện bởi tế bào và phục hồi protein được biểu hiện. Đối với các mục đích trong bản mô tả này, ví dụ, enzym có thể được tiết vào môi trường.

Chủng tế bào chủ có thể được chọn để có khả năng điều chỉnh biểu hiện của trình tự được chèn vào hoặc xử lý biểu hiện protein theo kiểu mong muốn. Những sửa đổi như vậy của polypeptit bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sự acetyl hóa, sự carboxyl hóa, sự glycosyl hóa, sự phosphoryl hóa, sự lipid hóa và sự acyl hóa. Quá trình xử lý sau dịch mã có thể ảnh hưởng đến sự gấp và/hoặc chức năng của polypeptit. Các tế bào chủ khác nhau, như, nhưng không giới hạn ở CHO (DG44, DXB11, CHO-K1), HeLa, MCDK, 293 và WI38 có máy móc tế bào cụ thể và các cơ chế đặc trưng cho các hoạt động sau dịch mã và có thể được chọn để đảm bảo sửa đổi và xử lý chính xác protein được đưa vào. Nói chung, sự lựa chọn tế bào là tế bào có khả năng đưa glycosyl hóa liên kết N vào polypeptit biểu hiện. Do đó, các tế bào nhân thực chứa các vectơ được cung

cấp. Ví dụ về tế bào nhân thực là tế bào Buồng trứng Hamster Trung Quốc (CHO) của động vật có vú. Ví dụ, tế bào CHO thiếu hụt dihydrofolate reductase (ví dụ, tế bào DG44) được sử dụng để sản xuất polypeptit được đề xuất trong bản mô tả này.

Sáng chế đề xuất vectơ chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit u-PA đã được sửa đổi, được ghép nối với trình tự tín hiệu gốc hoặc dị hợp, cũng như nhiều bản sao của chúng. Các vectơ có thể được chọn để biểu hiện protein enzym trong tế bào hoặc để protein enzym được biểu hiện như một protein tiết ra.

Theo một phương án, vectơ chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit có hoạt tính proteaza và chứa tất cả hoặc một phần miền proteaza, hoặc nhiều bản sao của nó, được đề xuất. Cũng được đề xuất là vectơ chứa trình tự nucleotide mã hóa vùng proteaza và phần bổ sung của protein proteaza lên đến và bao gồm protein proteaza có chiều dài đầy đủ, cũng như nhiều bản sao của chúng. Vectơ có thể được lựa chọn để biểu hiện vùng khung hoặc protein proteaza biến đổi hoặc miền proteaza của chúng trong tế bào hoặc sao cho protein proteaza được biểu hiện dưới dạng protein tiết. Khi miền proteaza được biểu hiện, axit nucleic được liên kết với axit nucleic mã hóa tín hiệu tiết, như trình tự tín hiệu của yếu tố giao phối α *Saccharomyces cerevisiae* hoặc một phần của nó, hoặc trình tự tín hiệu tự nhiên.

Nhiều hệ thống vectơ chủ có thể được sử dụng để biểu hiện trình tự mã hóa protein. Chúng bao gồm, nhưng không giới hạn, hệ thống tế bào của động vật có vú bị nhiễm virut (ví dụ, virut tiêm chủng, virut adenovirus và các virut khác); hệ thống tế bào côn trùng bị nhiễm virut (ví dụ virut baculovirus); vi sinh vật như nấm men chứa các vectơ nấm men; hoặc vi khuẩn được biến nạp với ADN của thực khuẩn, DNA, plasmid, hoặc cosmid DNA. Các yếu tố biểu hiện của vectơ khác nhau về độ mạnh và đặc điểm của chúng. Tùy thuộc vào hệ thống vector chủ được sử dụng, có thể sử dụng bất kỳ một trong số các phần tử phiên mã và dịch mã phù hợp.

Phương pháp bất kỳ mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết để chèn mảnh ADN vào vectơ đều có thể được sử dụng để cấu trúc vectơ biểu hiện chứa gen khảm chứa tín hiệu điều khiển phiên mã/dịch mã thích hợp và trình tự mã hóa protein. Các phương pháp này có thể bao gồm kỹ thuật tổng hợp và ADN tái tổ hợp *in vitro* và tái tổ hợp *in vivo* (tái tổ hợp gen). Biểu hiện của trình tự axit nucleic mã hóa protein, hoặc miền, dẫn xuất, mảnh hoặc tương đồng của chúng, có thể được điều hòa

bởi trình tự axit nucleic thứ hai sao cho gen hoặc mảnh của chúng được biểu hiện trong vật chủ được biến nạp với (các) phân tử ADN tái tổ hợp. Ví dụ, biểu hiện của protein có thể được kiểm soát bởi trình tự khởi động/trình tự tăng cường bất kỳ đã biết đến trong lĩnh vực này. Theo phương án cụ thể, trình tự khởi động không có nguồn gốc từ gen của protein mong muốn. Trình tự khởi động có thể được sử dụng bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, trình tự khởi động sớm SV40 (Bernoist and Chambon, *Nature* 290:304-310 (1981)), trình tự khởi động có trong đoạn lặp đầu tận dài 3' của virut Rous sarcoma (Yamamoto *et al. Cell* 22:787-797 (1980)), trình tự khởi động herpes thymidin kinaza (Wagner *et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:1441-1445 (1981)), trình tự điều hòa của gen metallothionein (Brinster *et al., Nature* 296:39-42 (1982)); vectơ biểu hiện tế bào nhân sơ như trình tự khởi động β–lactamaza (Jay *et al.*, (1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:5543) hoặc trình tự khởi động *tac* (DeBoer *et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80:21-25 (1983); xem thêm "Useful Proteins from Recombinant Bacteria": in *Scientific American* 242:79-94 (1980)); vectơ biểu hiện thực vật chứa trình tự khởi động synthetaza nopalin (Herrara-Estrella *et al., Nature* 303:209-213 (1984)) hoặc trình tự khởi động RNA 35S của virut khảm súp lơ (Garder *et al., Nucleic Acids Res.* 9:2871 (1981)), và trình tự khởi động của enzym quang hợp ribuloza bisphosphat carboxylaza (Herrera-Estrella *et al., Nature* 310:115-120 (1984)); yếu tố trình tự khởi động từ nấm men và các loại nấm khác như trình tự khởi động Gal4, trình tự khởi động dehydrogenaza rượu, trình tự khởi động phosphoglyxerol kinaza, trình tự khởi động phosphataza kiềm và vùng kiểm soát phiên mã động vật sau đây thể hiện độ đặc hiệu của mô và được sử dụng ở động vật chuyển gen: vùng kiểm soát gen elastaza I có hoạt tính trong tế bào nang tuyến tụy (Swift *et al., Cell* 38:639-646 (1984); Ornitz *et al., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 50:399-409 (1986); MacDonald, *Hepatology* 7:425-515 (1987)); vùng kiểm soát gen insulin có hoạt tính trong tế bào beta tuyến tụy (Hanahan *et al., Nature* 315:115-122 (1985)), vùng kiểm soát gen globulin miễn dịch có hoạt tính trong tế bào lympho (Grosschedl *et al., Cell* 38:647-658 (1984); Adams *et al., Nature* 318:533-538 (1985); Alexander *et al., Mol. Cell Biol.* 7:1436-1444 (1987)), vùng kiểm soát virut khối u tuyến vú của chuột có hoạt tính trong tinh hoàn, tế bào vú, tế bào lympho và tế bào mast (Leder *et al., Cell* 45:485-495 (1986)), vùng kiểm soát gen albumin có hoạt tính trong gan (Pinckert *et al., Genes and Devel.* 1:268-276 (1987)), vùng kiểm soát gen alpha-fetoprotein hoạt động trong gan (Krumlauf *et al., Mol. Cell.*

Biol. 5:1639-1648 (1985); Hammer *et al., Science* 235:53-58 (1987)), vùng kiểm soát gen alpha-1 antitrypsin hoạt động trong gan (Kelsey *et al., Genes and Devel.* 1:161-171 (1987)), vùng kiểm soát gen beta globin có hoạt tính trong tế bào tủy (Magram *et al., Nature* 315:338-340 (1985); Kollias *et al., Cell* 46:89-94 (1986)), vùng kiểm soát gen protein cơ bản myelin có hoạt tính trong tế bào thần kinh đệm ít gai của não (Readhead *et al., Cell* 48:703-712 (1987)), vùng kiểm soát gen myosin chuỗi nhẹ-2 có hoạt tính trong cơ xương (Shani, *Nature 314*:283-286 (1985)), và vùng kiểm soát gen hormon giải phóng tuyến sinh dục có hoạt tính trong tế bào sinh dục của vùng dưới đồi (Mason *et al.*, *Science 234*:1372-1378 (1986)).

Theo phương án cụ thể, vectơ được sử dụng mà chứa trình tự khởi động được liên kết chức năng với axit nucleic mã hóa protein mong muốn, hoặc miền, mảnh, dẫn xuất hoặc tương đồng của chúng, một hoặc nhiều nguồn gốc sao chép, và tùy ý, một hoặc nhiều trình tự đánh dấu có thể lựa chọn (ví dụ, gen kháng kháng sinh). Tùy thuộc vào hệ thống biểu hiện, tín hiệu khởi đầu cụ thể cũng được yêu cầu để dịch hiệu quả trình tự u-PA. Các tín hiệu này bao gồm codon khởi đầu ATG và trình tự liền kề. Trong trường hợp codon mở đầu và trình tự ngược dòng của u-PA hoặc mảnh có hoạt tính xúc tác của chúng được chèn vào vectơ biểu hiện thích hợp, thì không cần tín hiệu điều khiển dịch mã bổ sung. Trong trường hợp chỉ có trình tự mã hóa, hoặc một phần của chúng, được chèn vào, thì tín hiệu điều khiển phiên mã ngoại sinh bao gồm codon mở đầu ATG phải được cung cấp. Hơn nữa, codon mở đầu phải nằm trong khung đọc chính xác để đảm bảo phiên mã của toàn bộ phần chèn. Yếu tố phiên mã ngoại sinh và codon mở đầu có thể có các nguồn gốc khác nhau, tự nhiên và tổng hợp. Hiệu quả biểu hiện có thể được nâng cao bằng cách bao gồm trình tự tăng cường thích hợp với hệ thống tế bào được sử dụng (Scharf *et al.* (1994) *Results Probl Cell Differ* 20:125-62; Bittner *et al.* (1987) *Methods in Enzymol*, 153:516-544).

Vectơ plasmid mẫu để biến đổi tế bào *E. coli*, bao gồm, ví dụ, vectơ biểu hiện pQE (có sẵn từ Qiagen®, Valencia, CA; xem thêm tài liệu do Qiagen® xuất bản mô tả hệ thống). vectơ pQE có trình tự khởi động T5 của phage (được nhận biết bởi *E. coli* RNA polymerase) và mô-đun ức chế toán tử lac kép để cung cấp sự biểu hiện mức độ cao, được điều chỉnh chặt chẽ của các protein tái tổ hợp ở *E. coli*, một vị trí liên kết ribosome tổng hợp (RBS II) cho dịch mã hiệu quả, trình tự mã hóa thẻ 6XHis, trình kết thúc phiên mã t0 và T1, nguồn gốc sao chép ColE1 và gen beta-lactamase để tạo ra tính

kháng ampicillin. Các vectơ pQE cho phép đặt thẻ 6xHis tại đầu tận cùng N hoặc C của protein tái tổ hợp. Các plasmid như vậy bao gồm pQE 32, pQE 30 và pQE 31 cung cấp nhiều vị trí nhân dòng cho cả ba khung đọc và cung cấp sự biểu hiện của các protein được gắn thẻ N-terminal 6xHis. Các vectơ plasmid mẫu khác để biến đổi tế bào *E. coli*, bao gồm, ví dụ, các vectơ biểu hiện pET (xem, bằng sáng chế Hoa Kỳ 4,952,496; có sẵn từ Novagen®, Madison, WI; xem thêm tài liệu do Novagen® xuất bản mô tả hệ thống). Những plasmid như vậy bao gồm pET 11a, chứa trình tự khởi động T7lac, trình kết thúc T7, toán tử lac của E. coli cảm ứng và gen ức chế lac; pET 12a-c, chứa trình tự khởi động T7, chất kết thúc T7, và tín hiệu bài tiết ompT của *E. coli*; và pET 15b và pET19b (Novagen®, Madison, WI), chứa trình tự dẫn đầu His-TagTM để sử dụng trong tinh chế với cột His và vị trí phân cắt thrombin cho phép phân cắt sau khi tinh chế qua cột, vùng xúc tiến T7-lac và đoạn kết thúc T7.

Thông thường, vectơ có thể là plasmit, virut hoặc các loại khác được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này, được sử dụng để biểu hiện polypeptit u-PA biến đổi *in vivo* hoặc *in vitro*. Ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi được biểu hiện trong tế bào động vật có vú, bao gồm, ví dụ, tế bào buồng trứng của chuột lang Trung Quốc (CHO).

Vectơ virut, như adenovirut, retrovirut hoặc vectơ virut vacxin, có thể được sử dụng. Trong một số ví dụ, vectơ là một vectơ virut retrovirus hoặc virut khác bị lỗi hoặc giảm độc lực (xem Bằng sáng chế U. S. Số 4,980,286). Ví dụ, một vectơ retrovirus có thể được sử dụng (xem Miller *et al.*, *Meth. Enzymol.* 217: 581-599 (1993)). Các vectơ retrovirus này đã được sửa đổi để xóa các trình tự retrovirus không cần thiết để đóng gói bộ gen virus và tích hợp vào ADN của tế bào chủ. Trong một số ví dụ, virut được trang bị axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA biến đổi có thể tạo điều kiện sao chép và lây lan trong mô đích. Virut cũng có thể là virut lytic hoặc virut không ly giải, trong đó virut nhân lên có chọn lọc dưới một trình tự khởi động cụ thể của mô. Khi virus nhân lên, sự đồng biểu hiện của polypeptit u-PA với các gen của virus sẽ tạo điều kiện cho sự lây lan của virut *in vivo*.

4. Biểu hiện

Polypeptit u-PA biến tính có thể được sản xuất bằng bất kỳ phương pháp nào được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết đến bao gồm cả phương pháp in vivo và in vitro. Các protein mong muốn có thể được biểu hiện ở bất kỳ

sinh vật nào thích hợp để tạo ra số lượng và dạng protein cần thiết, như cần thiết cho việc sử dụng và xử lý. Vật chủ biểu hiện bao gồm các sinh vật nhân sơ và nhân thực như E.coli, nấm men, thực vật, tế bào côn trùng, tế bào động vật có vú, bao gồm cả dòng tế bào người và động vật chuyển gen. Các vật chủ biểu hiện có thể khác nhau về mức độ sản xuất protein của chúng cũng như các loại biến đổi sau dịch mã có trên các protein biểu hiện. Việc lựa chọn máy chủ biểu hiện có thể được thực hiện dựa trên những yếu tố này và các yếu tố khác, như các cân nhắc về quy định và an toàn, chi phí sản xuất, nhu cầu và phương pháp tinh chế.

Nhiều vectơ biểu hiện có sẵn và đã biết đến với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được sử dụng để biểu hiện protein. Việc lựa chọn vectơ biểu hiện sẽ bị ảnh hưởng bởi việc lựa chọn hệ thống biểu hiện vật chủ. Thông thường, vectơ biểu hiện có thể bao gồm trình tự khởi động phiên mã và trình tự tăng cường tùy ý, tín hiệu dịch mã và tín hiệu kết thúc phiên mã và dịch mã. Vectơ biểu hiện được sử dụng để biến nạp ổn định thường có trình tự đánh dấu có thể lựa chọn cho phép lựa chọn và duy trì tế bào được biến nạp. Trong một số trường hợp, nguồn gốc sao chép có thể được sử dụng để khuếch đại số bản sao của vectơ.

Polypeptit u-PA biến tính cũng có thể được sử dụng hoặc biểu thị dưới dạng protein dung hợp. Ví dụ, một phản ứng tổng hợp enzyme có thể được tạo ra để bổ sung thêm chức năng cho enzyme. Ví dụ về protein dung hợp enzym bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dung hợp chuỗi tín hiệu, một thẻ như để bản địa hóa, ví dụ, thẻ his6 hoặc thẻ myc, hoặc thẻ để tinh sạch, ví dụ, dung hợp GST và trình tự chỉ đạo sự tiết protein và/hoặc liên kết màng.

Ví dụ, polypeptit u-PA được sửa đổi được mô tả trong bản mô tả này là polypeptit được tạo ra bằng cách biểu hiện phân tử axit nucleic mã hóa miền proteaza được nêu trong bất kỳ một trong số SEQ ID NO: 1-6, 8-44 và 52-75 hoặc a trình tự các axit amin thể hiện ít nhất 65%, 70%, 75%, 80%, 84%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% nhận dạng trình tự cho một trình tự được quy định trong bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1-6, 8-44 và 52-75.

Để sản xuất protein tái tổ hợp lâu dài, năng suất cao, cần có biểu hiện ổn định. Ví dụ, các dòng tế bào biểu hiện ổn định polypeptit u-PA biến đổi có thể được biến nạp bằng cách sử dụng vectơ biểu hiện chứa nguồn gốc virut của các yếu tố sao chép hoặc

biểu hiện nội sinh và gen đánh dấu có thể lựa chọn. Sau khi đưa vector vào, các tế bào có thể được phép phát triển trong 1-2 ngày trong môi trường đã được làm giàu trước khi chúng được chuyển sang môi trường chọn lọc. Mục đích của dấu hiệu có thể lựa chọn là tạo ra khả năng chống lại sự chọn lọc và sự hiện diện của nó cho phép tăng trưởng và phục hồi các tế bào biểu hiện thành công các trình tự được đưa vào. Các tế bào kháng của các tế bào được biến nạp ổn định có thể được tăng sinh bằng kỹ thuật nuôi cấy mô phù hợp với loại tế bào.

Số lượng hệ thống lựa chọn bất kỳ có thể được sử dụng để khôi phục dòng tế bào đã biến nạp. Chúng bao gồm nhưng không bị giới hạn ở gen virut herpes simplex thymidin kinaza (Wigler *et al.*, (1977) *Cell* 11:223-232) và adenin phosphoribosyltransferaza (Lowy I *et al.* (1980) *Cell*, 22:817-23), có thể được sử dụng trong tế bào TK hoặc APRT tương ứng. Ngoài ra, kháng chất chống chuyển hóa, kháng sinh hoặc kháng thuốc diệt cỏ có thể được sử dụng làm cơ sở để lựa chọn. Ví dụ, DHFR, mang lại khả năng kháng methotrexat (Wigler M *et al.* (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci*, 77:3567-70); npt, mang lại khả năng kháng aminoglycosit neomyxin và G-418 (Colbere-Garapin F *et al.* (1981) *J. Mol. Biol.*, 150:1-14); và als hoặc pat, mang lại khả năng kháng clorsulfuron và phosphinotrixin axetyltransferaza, tương ứng, có thể được sử dụng. Gen có thể lựa chọn bổ sung được mô tả, ví dụ, trpB, cho phép tế bào sử dụng indol thay cho typtophan, hoặc hisD, cho phép tế bào sử dụng histinol thay cho histidin (Hartman SC and RC Mulligan (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci,* 85:8047-8051). Trình tự đánh dấu có thể nhìn thấy, như nhưng không bị giới hạn ở, anthoxyanin, beta glucuronidaza và cơ chất của nó, GUS và luciferaza và cơ chất luciferin của nó, cũng có thể được sử dụng để xác định chất biến nạp và cũng có thể định lượng lượng biểu hiện protein tạm thời hoặc ổn định do hệ vectơ cụ thể (Rhodes CA *et al.* (1995) *Methods Mol. Biol.* 55:121-131).

Có thể kiểm tra sự hiện diện và biểu hiện của polypeptit u-PA. Ví dụ, việc phát hiện một polypeptit chức năng có thể được xác định bằng cách thử nghiệm môi trường điều hòa hoạt tính của enzym hyaluronidase trong các điều kiện thích hợp. Các thử nghiệm ví dụ để đánh giá độ hòa tan và hoạt tính của biểu hiện protein được đề xuất trong bản mô tả này.

a. Tế bào chưa có nhân điển hình

Sinh vật nhân sơ, đặc biệt là *E. coli*, cung cấp hệ thống sản xuất lượng lớn protein. Biến đổi vi khuẩn E. *coli* là một kỹ thuật đơn giản và nhanh chóng nổi tiếng với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các vectơ biểu hiện cho *E.coli* có thể chứa các trình tự khởi động cảm ứng; các trình tự khởi động như vậy rất hữu ích để tạo ra mức độ biểu hiện protein cao và để biểu hiện các protein có một số độc tính đối với tế bào chủ. Ví dụ về các trình tự khởi động cảm ứng bao gồm trình tự khởi động lac, trình tự khởi động trp, trình tự khởi động tac lai, trình tự khởi động RNA T7 và SP6 và trình tự khởi động λPL được điều chỉnh nhiệt độ.

Protein, như bất kỳ được đề xuất trong bản mô tả này, có thể được biểu hiện trong môi trường tế bào chất của *E. coli*. Tế bào chất là môi trường khử và đối với một số phân tử, điều này có thể dẫn đến việc tạo thành thể vùi không hòa tan. Chất khử như dithiothreotol và β-mercaptoetanol và chất biến tính, như guanidin-HCl và urê có thể được sử dụng để phân giải protein. Một cách tiếp cận khác là biểu hiện của protein trong không gian ngoại chất của vi khuẩn, nơi cung cấp môi trường oxy hóa và isomeraza giống chaperonin và disulfua và có thể dẫn đến sản xuất protein hòa tan. Thông thường, trình tự dẫn đầu được dung hợp với protein cần biểu hiện, mà hướng protein đến vùng ngoại vi. Trình tự dẫn đầu sau đó bị loại bỏ bởi peptidaza tín hiệu bên trong chu chất. Ví dụ của trình tự dẫn đầu nhắm đích chu chất bao gồm trình tự dẫn đầu pelB từ gen pectat lyaza và trình tự dẫn đầu có nguồn gốc từ gen phosphataza kiềm. Trong một số trường hợp, biểu hiện chu chất cho phép rò rỉ biểu hiện protein vào môi trường nuôi cấy. Sự tiết protein cho phép tinh chế nhanh chóng và đơn giản từ dịch nổi bề mặt của môi trường nuôi cấy. Protein không được tiết có thể thu được từ chu chất bằng cách dung giải thẩm thấu. Tương tự với biểu hiện tế bào chất, trong một số trường hợp, protein có thể trở nên không hòa tan và chất biến tính và chất khử có thể được sử dụng để tạo điều kiện cho quá trình hòa tan và phản ứng lại. Nhiệt độ cảm ứng và tăng trưởng cũng có thể ảnh hưởng đến mức độ biểu hiện và khả năng hòa tan, thường sử dụng nhiệt độ từ 25°C đến 37°C. Thông thường, vi khuẩn tạo ra protein không được phân giải. Do đó, nếu protein cần glycosyl hóa để thực hiện chức năng, thì quá trình glycosyl hóa có thể được bổ sung *in vitro* sau khi tinh chế từ tế bào chủ.

b. Tế bào nấm men

Nấm men như *Saccharomyces cerevisae, Schizosaccharomyces pombe, Yarrowia lipolytica, Kluyveromyces lactis* và *Pichia pastoris* là vật chủ biểu hiện nấm

men đã biết có thể được sử dụng để sản xuất protein, như loại bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này. Nấm men có thể được biến nạp bằng vectơ sao chép từng đợt hoặc bằng sự tích hợp nhiễm sắc thể ổn định bằng cách tái tổ hợp tương đồng. Thông thường, trình tự khởi động cảm ứng được sử dụng để điều hòa biểu hiện gen. Ví dụ của trình tự khởi động này bao gồm trình tự khởi động GAL1, GAL7 và GAL5 và metallothionein, như CUP1, AOX1 hoặc *Pichia* khác hoặc trình tự khởi động nấm men khác. Vectơ biểu hiện thường bao gồm trình tự đánh dấu có thể lựa chọn như LEU2, TRP1, HIS3 và URA3 để lựa chọn và duy trì ADN biến nạp. Protein biểu hiện trong nấm men thường hòa tan. Đồng biểu hiện với chaperonin như Bip và protein disulfua isomeraza có thể cải thiện mức độ biểu hiện và độ hòa tan. Ngoài ra, protein biểu hiện trong nấm men có thể được hướng đến tiết bằng cách sử dụng dung hợp peptit tín hiệu tiết như tín hiệu tiết yếu tố alpha kiểu giao phối của nấm men từ *Saccharomyces cerevisae* và dung hợp với protein bề mặt tế bào nấm men như thụ thể bám dính giao phối Aga2p hoặc *Arxula adeninivorans* glucoamylaza. Vị trí phân cắt proteaza như đối với proteaza Kex-2, có thể được xử lý di truyền để loại bỏ trình tự dung hợp khỏi polypeptit biểu hiện khi chúng thoát ra khỏi con đường tiết. Nấm men cũng có khả năng glycosyl hóa ở môtíp Asn-X-Ser/Thr.

C. Côn trùng và tế bào côn trùng

Tế bào côn trùng, cụ thể là sử dụng biểu hiện baculovirut, hữu ích để biểu hiện polypeptit như polypeptit u-PA. Tế bào côn trùng biểu hiện hàm lượng protein cao và có khả năng thực hiện hầu hết các biến đổi sau dịch mã mà sinh vật nhân thực bậc cao sử dụng. Baculovirut có khoảng vật chủ hạn chế, cải thiện tính an toàn và giảm lo ngại về quy định biểu hiện của sinh vật nhân chuẩn. Vectơ biểu hiện điển hình sử dụng trình tự khởi động để biểu hiện mức độ cao như trình tự khởi động polyhedrin của baculovirut. Hệ thống baculovirut thường được sử dụng bao gồm baculovirut như virut đa hình hạt nhân *Autographa californica* (AcNPV), và virut đa hình hạt nhân *Bombyx mori* (BmNPV) và dòng tế bào côn trùng như Sf9 có nguồn gốc từ *Spodoptera ridgiperda, Pseudaletia unipuncta* (A7S) và *Danaus plexippus* (DpN1). Đối với biểu hiện ở mức độ cao, trình tự nucleotit của phân tử được biểu hiện được dung hợp ngay lập tức ở phía dưới của codon khởi đầu đa diện của virut. Tín hiệu tiết của động vật có vú được xử lý chính xác trong tế bào côn trùng và có thể được sử dụng để tiết biểu hiện protein vào môi trường nuôi cấy. Dòng tế bào *Pseudaletia unipuncta* (A7S) và *Danaus plexippus*

(DpN1) tạo ra protein có mẫu glycosyl hóa tương tự với hệ thống tế bào của động vật có vú. Tế bào côn trùng làm ví dụ là tế bào được thay đổi để giảm khả năng sinh miễn dịch, bao gồm tế bào có vectơ biểu hiện virut baculovirut "được làm giống như của động vật có vú" và tế bào thiếu enzym FT3.

Hệ thống biểu hiện thay thế ở tế bào côn trùng là việc sử dụng tế bào được biến nạp ổn định. Các dòng tế bào như tế bào Schnieder 2 (S2) và Kc (*Drosophila melanogaster*) và tế bào C7 (*Aedes albopictus*) có thể được sử dụng để biểu hiện. Trình tự khởi động *Drosophila* metallothionein có thể được sử dụng để tạo ra mức độ biểu hiện cao khi có cảm ứng kim loại nặng với cadmium hoặc đồng. Các vectơ biểu hiện thường được duy trì bằng cách sử dụng các chất đánh dấu có thể lựa chọn như neomycin và hygromycin.

d. Biểu hiện của động vật có vú

Hệ thống biểu hiện của động vật có vú có thể được sử dụng để biểu hiện protein bao gồm polypeptit U-PA. Cấu trúc biểu hiện có thể được chuyển vào tế bào động vật có vú bằng cách nhiễm virut như adenovirut hoặc bằng cách truyền ADN trực tiếp như liposom, canxi phosphat, DEAE-dextran và bằng phương pháp vật lý như điện kết và vi tiêm. Vectơ biểu hiện cho tế bào động vật có vú thường bao gồm vị trí nắp mARN, hộp TATA, trình tự khởi đầu phiên mã (trình tự đồng thuận Kozak) và phần tử polyadenyl hóa. Phần tử IRES cũng có thể được bổ sung để cho phép biểu hiện lưỡng điện tử với gen khác, như trình tự đánh dấu có thể lựa chọn. Vectơ này thường bao gồm trình tự tăng cường trình tự khởi động phiên mã để biểu hiện mức cao, ví dụ như trình tự tăng cường trình tự khởi động SV40, trình tự khởi động cytomegalovirut ở người (CMV) và đoạn lặp đầu tận dài của virut Rous sarcoma (RSV). Các trình tự tăng cường trình tự khởi động này có hoạt tính trong nhiều loại tế bào. Trình tự khởi động mô và loại tế bào và vùng tăng cường cũng có thể được sử dụng để biểu hiện. Vùng trình tự khởi động/tăng cường làm ví dụ bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, vùng từ gen như elastaza I, insulin, immunoglobulin, virut khối u tuyến vú của chuột, albumin, alpha fetoprotein, alpha 1 antitrypsin, beta globin, protein cơ bản myelin, chuỗi nhẹ myosin 2, và kiểm soát gen hormon giải phóng tuyến sinh dục. Trình tự đánh dấu có thể chọn có thể được sử dụng để chọn và duy trì tế bào có cấu trúc biểu hiện. Ví dụ của gen đánh dấu có thể chọn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hygromyxin B phosphotransferaza, adenosin deaminaza, xanthin-guanin phosphoribosyl transferaza, aminoglycosit phosphotransferaza,

dihydrofolat reductaza (DHFR) và thymidin kinaza. Ví dụ, biểu hiện có thể được thực hiện khi có mặt methotrexat để chỉ chọn tế bào biểu hiện gen DHFR. Dung hợp với phân tử tín hiệu bề mặt tế bào như TCR-ζ và FcεRI-γ có thể trực tiếp biểu hiện protein ở trạng thái có hoạt tính trên bề mặt tế bào.

Nhiều dòng tế bào có sẵn để biểu hiện ở động vật có vú bao gồm tế bào chuột, chuột người, khỉ, gà và chuột lang. Các dòng tế bào mẫu bao gồm nhưng không giới hạn ở CHO, Balb/3T3, HeLa, MT2, chuột NS0 (nonsecreting) và các dòng tế bào u tủy khác, dòng tế bào hybridoma và dị thể, tế bào lympho, nguyên bào sợi, Sp2/0, COS, NIH3T3, HEK293, 293S, 2B8 và HKB ô. Các dòng tế bào cũng có sẵn để thích nghi với môi trường không có huyết thanh, tạo điều kiện thuận lợi cho việc tinh chế các protein tiết ra từ môi trường nuôi cấy tế bào. Ví dụ bao gồm tế bào CHO-S (Invitrogen®, Carlsbad, CA, cat # 11619-012) và dòng tế bào EBNA-1 không có huyết thanh (Pham *et al.*, (2003) *Biotechnol. Bioeng*. 84:332-42.). Các dòng tế bào cũng có sẵn được điều chỉnh để phát triển trong các môi trường đặc biệt được tối ưu hóa để biểu hiện tối đa. Ví dụ, tế bào DG44 CHO được thích nghi để phát triển trong nuôi cấy huyền phù trong môi trường không có sản phẩm động vật, được xác định về mặt hóa học.

e. Thực vật

Tế bào thực vật chuyển gen và thực vật có thể được sử dụng để biểu hiện protein như bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này. Cấu trúc biểu hiện thường được chuyển sang thực vật bằng cách sử dụng chuyển ADN trực tiếp như bắn phá vi đạn và chuyển qua trung gian PEG vào nguyên bào, và với sự biến nạp qua trung gian vi khuẩn nông nghiệp. Vectơ biểu hiện có thể bao gồm trình tự khởi động và trình tự tăng cường, phần tử kết thúc phiên mã và phần tử điều khiển dịch mã. Vectơ biểu hiện và kỹ thuật biến nạp thường được phân chia giữa các vật chủ hai lá mầm, như cây *Arabidopsis* và thuốc lá, và vật chủ một lá mầm, như ngô và lúa. Ví dụ của trình tự khởi động thực vật được sử dụng để biểu hiện bao gồm trình tự khởi động virut khảm súp lơ, trình tự khởi động nopalin syntaza, trình tự khởi động riboza bisphosphat carboxylaza và trình tự khởi động ubiquitin và UBQ3. Trình tự đánh dấu có thể lựa chọn như hygromycin, phosphomannoza isomeraza và neomyxin phosphotransferaza thường được sử dụng để tạo điều kiện lựa chọn và duy trì tế bào biến nạp. Tế bào thực vật biến nạp có thể được duy trì trong môi trường nuôi cấy dưới dạng tế bào, tập hợp (mô sẹo) hoặc tái sinh thành toàn cây. Tế bào thực vật chuyển gen cũng có thể bao gồm tảo được xử lý di truyền để

tạo ra polypeptit hyaluronidaza. Vì thực vật có mẫu glycosyl hóa khác với tế bào động vật có vú, điều này có thể ảnh hưởng đến sự lựa chọn protein được tạo ra ở các vật chủ này.

5. Tinh chế

Tế bào chủ được biến nạp với trình tự axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA biến đổi có thể được nuôi cấy trong các điều kiện thích hợp cho sự biểu hiện và phục hồi của protein được mã hóa từ quá trình nuôi cấy tế bào. Protein được tạo ra bởi một tế bào tái tổ hợp thường được tiết ra, nhưng có thể được chứa trong tế bào tùy thuộc vào trình tự và/hoặc vectơ được sử dụng. Như được hiểu bởi những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, các vectơ biểu hiện chứa axit nucleic mã hóa u-PA có thể được thiết kế với các chuỗi tín hiệu tạo điều kiện thuận lợi cho việc tiết trực tiếp u-PA qua màng tế bào nhân sơ hoặc tế bào nhân thực.

Do đó, phương pháp tinh chế polypeptit từ tế bào chủ phụ thuộc vào các tế bào chủ đã chọn và hệ thống biểu hiện. Đối với các phân tử được tiết ra, protein thường được tinh sạch khỏi môi trường nuôi cấy sau khi loại bỏ tế bào. Đối với biểu hiện nội bào, tế bào có thể được ly giải và tinh chế protein từ dịch chiết. Khi các sinh vật chuyển gen như thực vật và động vật chuyển gen được sử dụng để biểu hiện, các mô hoặc cơ quan có thể được sử dụng làm nguyên liệu ban đầu để tạo ra dịch chiết tế bào ly giải. Ngoài ra, sản xuất động vật chuyển gen có thể bao gồm sản xuất polypeptit trong sữa hoặc trứng, có thể được thu thập, và nếu cần, các protein có thể được chiết xuất và tinh chế thêm bằng cách sử dụng phương pháp tiêu chuẩn trong lĩnh vực này.

Protein, như polypeptit u-PA biến đổi, có thể được tinh chế bằng cách sử dụng các kỹ thuật tinh chế protein tiêu chuẩn được biết đến trong lĩnh vực này bao gồm nhưng không giới hạn ở, SDS-PAGE, sắc ký phân đoạn kích thước và loại trừ kích thước, kết tủa amoni sulfat và sắc ký trao đổi ion, như anion trao đổi. Kỹ thuật làm sạch ái lực cũng có thể được sử dụng để cải thiện hiệu quả và độ tinh khiết của chế phẩm. Ví dụ, kháng thể, thụ thể và các phân tử khác liên kết với protein u-PA có thể được sử dụng trong tinh chế ái lực.

Cấu trúc biểu hiện cũng có thể được xử lý di truyền để bổ sung thẻ ái lực vào protein như thẻ cải biến giống ubiquitin nhỏ (SUMO), myc epitop, dung hợp GST hoặc His_6 và ái lực lần lượt được tinh chế bằng SUMO hoặc kháng thể myc, nhựa glutathion

và nhựa Ni. Thẻ này có thể được nối với trình tự nucleotit mã hóa u-PA như được mô tả ở nơi khác trong bản mô tả này, có thể tạo điều kiện tinh chế protein hòa tan. Ví dụ, polypeptit u-PA biến đổi có thể được biểu thị như protein tái tổ hợp với một hoặc nhiều miền polypeptit bổ sung được bổ sung để tạo điều kiện tinh chế protein. Miền tạo điều kiện tinh chế này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, peptit chelat kim loại như môđun histidin-tryptophan cho phép tinh chế trên kim loại cố định, miền protein A cho phép tinh chế trên globulin miễn dịch cố định và miền được sử dụng trong hệ thống tinh chế ái lực/mở rộng FLAGS (Immunex Corp., Seattle Wash.). Việc bao gồm trình tự liên kết có thể phân cắt như yếu tố XA hoặc enterokinaza (Invitrogen®, San Diego, CA) giữa miền tinh sạch và polypeptit u-PA biểu hiện là hữu ích để tạo điều kiện tinh chế. Một vectơ biểu hiện này cung cấp biểu hiện của protein dung hợp chứa polypeptit u-PA và vị trí phân cắt enterokinaza. Thẻ biến đổi giống ubiquitin nhỏ (SUMO) tạo điều kiện thuận lợi cho việc tinh chế trên IMIAC (sắc ký ái lực ion kim loại cố định), trong khi vị trí phân cắt enterokinaza cung cấp phương tiện để tinh chế polypeptit từ protein dung hợp.

Độ tinh khiết có thể được đánh giá bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này bao gồm điện di trên gel, phương pháp HPLC trực giao, kỹ thuật nhuộm và đo quang phổ. Protein được biểu hiện và tinh khiết có thể được phân tích bằng cách sử dụng bất kỳ xét nghiệm hoặc phương pháp nào được một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật biết đến, ví dụ, bất kỳ được mô tả trong Phần 3. Chúng bao gồm các xét nghiệm dựa trên các đặc tính vật lý và/hoặc chức năng của protein, không giới hạn, phân tích bằng điện di trên gel, xét nghiệm miễn dịch và thử nghiệm hoạt tính u-PA.

6. Biến đổi bổ sung

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được biến đổi để cải thiện hoặc thay đổi đặc tính dược động học và dược lý học. Cụ thể là, polypeptit u-PA đã được biến đổi có thể được liên hợp với một polyme, như gốc PEG hoặc dextran hoặc sialiation để giảm vi khuẩn gây ung thư và/hoặc tăng thời gian bán hủy trong huyết thanh và các dịch cơ thể khác bao gồm cả dịch thủy tinh.

a. PEGyl hóa

Polyetylen glycol (PEG) được sử dụng trong vật liệu sinh học, công nghệ sinh học và y học chủ yếu vì PEG là polyme hòa tan trong nước, không độc hại, tương thích

sinh học thường không gây dị ứng (Zhao and Harris, *ACS Symposium Series* 680: 458-72, 1997). Trong lĩnh vực phân phối thuốc, dẫn xuất PEG được sử dụng rộng rãi trong việc gắn cộng hóa trị (tức là "PEGyl hóa") vào protein để giảm tính sinh miễn dịch, phân giải protein và thanh thải thận để tăng thời gian bán thải trong huyết thanh và tăng cường khả năng hòa tan (Zalipsky, *Adv. Drug Del. Rev.* 16:157-82, 1995). Tương tự, PEG được gắn vào thuốc có khối lượng phân tử thấp, tương đối kỵ nước để tăng cường khả năng hòa tan, giảm độc tính và thay đổi phân phối sinh học. Thông thường, thuốc PEGyl hóa được tiêm dưới dạng dung dịch.

Ứng dụng liên quan là tổng hợp mạng PEG có thể phân hủy liên kết chéo hoặc các công thức để sử dụng trong phân phối thuốc vì phần lớn hóa học tương tự được sử dụng trong thiết kế các chất mang thuốc có thể phân hủy, hòa tan cũng có thể được sử dụng trong thiết kế gel phân hủy (Sawhney *et al., Macromolecules* 26: 581-87, 1993). Người ta cũng biết rằng phức hợp giữa các phân tử có thể được tạo thành bằng cách trộn các dung dịch của hai polyme bổ sung. Các phức chất như vậy thường được ổn định bằng các tương tác tĩnh điện (polyanion-polycation) và/hoặc liên kết hydro (polyacid-polybase) giữa các polyme có liên quan và/hoặc bằng tương tác kỵ nước giữa các polyme trong môi trường nước (Krupers *et al., Eur. Polym J.* 32:785-790, 1996). Ví dụ, trộn các dung dịch axit polyacrylic (PAAc) và polyetylen oxit (PEO) trong các điều kiện thích hợp dẫn đến sự hình thành các phức chất chủ yếu dựa trên liên kết hydro. Sự phân ly của các phức hợp này ở các điều kiện sinh lý đã được sử dụng để phân phối thuốc tự do (tức là không PEGyl hóa). Phức hợp của các polyme bổ sung đã được hình thành từ các đồng trùng hợp và đồng trùng hợp.

Nhiều chất phản ứng cho quá trình PEGyl hóa được gọi là protein điều trị dạng PEG (PEGyl hóa). Chất phản ứng này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, phản ứng của polypeptit với PEG hoạt hóa N-hydroxysucxinimidyl (NHS), sucxinimidyl mPEG, $mPEG_2$-N-hydroxysucxinimit, mPEG sucxinimidyl alpha-metylbutanoat, mPEG sucxinimidyl propionat, mPEG sucxinimidyl butanoat, mPEG carboxymetyl 3-axit hydroxybutanoic sucxinimidyl este, PEG-sucxinimidyl propionat đồng chức năng, PEG propionaldehyt đồng chức năng, PEG butyraldehyt đồng chức năng, PEG maleimit, PEG hydrazit, p-nitrophenyl-cacbonat PEG, mPEG-benzotriazol cacbonat, propionaldehyt PEG, mPEG butyraldehyt, $mPEG_2$ butyraldehyt phân nhánh, mPEG axetyl, mPEG piperidon, mPEG metylketon, mPEG "không liên kết" maleimit, mPEG vinyl sulfon,

mPEG thiol, mPEG orthopyridylthioeste, mPEG orthopyridyl disulfua, Fmoc-PEG-NHS, Boc-PEG-NHS, vinylsulfon PEG-NHS, acrylat PEG-NHS, acrylat PEG-NHS PEG-NHS, và biotin PEG-NHS (xem, ví dụ, Monfardini *et al., Bioconjugate Chem.* 6:62-69, 1995; Veronese *et al., J. Bioactive Compatible Polymers* 12:197-207, 1997; U.S. 5,672,662; U.S. 5,932,462; U.S. 6,495,659; U.S. 6,737,505; U.S. 4,002,531; U.S. 4,179,337; U.S. 5,122,614; U.S. 5,324, 844; U.S. 5,446,090; U.S. 5,612,460; U.S. 5,643,575; U.S. 5,766,581; U.S. 5,795, 569; U.S. 5,808,096; U.S. 5,900,461; U.S. 5,919,455; U.S. 5,985,263; U.S. 5,990, 237; U.S. 6,113,906; U.S. 6,214,966; U.S. 6,258,351; U.S. 6,340,742; U.S. 6,413,507; U.S. 6,420,339; U.S. 6,437,025; U.S. 6,448,369; U.S. 6,461,802; U.S. 6,828,401; U.S. 6,858,736; U.S. 2001/0021763; U.S. 2001/0044526; U.S. 2001/0046481; U.S. 2002/0052430; U.S. 2002/0072573; U.S. 2002/0156047; U.S. 2003/0114647; U.S. 2003/0143596; U.S. 2003/0158333; U.S. 2003/0220447; U.S. 2004/0013637; US 2004/0235734; WO0500360; U.S. 2005/0114037; U.S. 2005/0171328; U.S. 2005/0209416; EP 01064951; EP 0822199; WO 00176640; WO 0002017; WO 0249673; WO 9428024; và WO 0187925).

Theo một ví dụ, polyethylene glycol có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 3 kD đến khoảng 50 kD, và thường từ khoảng 5 kD đến khoảng 30 kD. Sự gắn kết cộng hóa trị của PEG với thuốc (được gọi là "PEGyl hóa") có thể được thực hiện bằng các kỹ thuật tổng hợp hóa học đã biết. Ví dụ, quá trình PEGyl hóa của protein có thể được thực hiện bằng cách cho phản ứng PEG hoạt hóa NHS với protein trong tình trạng bệnh phản ứng thích hợp.

Trong khi nhiều phản ứng được mô tả đối với quá trình PEGyl hóa, phương pháp được áp dụng chung nhất cho phép định hướng, sử dụng điều kiện phản ứng nhẹ và không cần quá trình xử lý sâu rộng để loại bỏ chất xúc tác hoặc sản phẩm sinh học độc hại. Ví dụ, monometoxy PEG (mPEG) chỉ có một hydroxyl đầu cuối phản ứng, và do đó việc sử dụng nó giới hạn một số tính không đồng nhất của hỗn hợp sản phẩm PEG-protein thu được. Việc hoạt hóa nhóm hydroxyl ở cuối polyme đối diện với nhóm metoxy đầu tận thường là cần thiết để thực hiện quá trình PEGyl hóa protein hiệu quả, với mục đích là làm cho PEG dẫn xuất dễ bị tấn công nucleophil hơn. Nucleophil tấn công thường là nhóm epsilon-amino của gốc lysyl, nhưng các amin khác cũng có thể phản ứng (ví dụ như alpha-amin đầu tận N hoặc amin vòng của histidin) nếu điều kiện khu trú thuận lợi. Có thể có phần đính kèm có định hướng hơn trong protein chứa lysin

hoặc xystein. Gốc sau có thể được nhắm đích bởi PEG-maleimit để biến đổi đặc hiệu thiol. Ngoài ra, hydrazit PEG có thể phản ứng với enzym phân giải hyaluronan oxy hóa theo chu kỳ và khử khi có mặt $NaCNBH_3$. Cụ thể hơn, đường PEGyl hóa CMP có thể phản ứng với enzym phân hủy hyaluronan khi có mặt glycosyl-transferaza thích hợp. Một kỹ thuật là kỹ thuật "PEGyl hóa" trong đó một số phân tử polyme được ghép nối với polypeptit quan tâm. Khi sử dụng kỹ thuật này, hệ thống miễn dịch gặp khó khăn trong việc nhận ra epitop trên bề mặt polypeptit chịu trách nhiệm tạo thành kháng thể, do đó làm giảm phản ứng miễn dịch. Đối với polypeptit được đưa trực tiếp vào hệ thống tuần hoàn của cơ thể người để tạo ra tác dụng sinh lý cụ thể (tức là dược phẩm), đáp ứng miễn dịch tiềm năng điển hình là đáp ứng IgG và/hoặc IgM, trong khi polypeptit được hít vào qua hệ hô hấp (tức là polypeptit công nghiệp) có khả năng gây ra đáp ứng IgE (tức là đáp ứng dị ứng). Một trong các lý thuyết giải thích cho việc giảm đáp ứng miễn dịch là (các) phân tử polyme che chắn (các) epitop trên bề mặt polypeptit chịu trách nhiệm cho đáp ứng miễn dịch dẫn đến tạo thành kháng thể. Giả thuyết khác hoặc ít nhất là yếu tố một phần là thể liên hợp càng nặng thì đáp ứng miễn dịch thu được càng giảm.

Thông thường, để tạo ra polypeptit u-PA biến đổi được PEGyl hóa được đề xuất trong bản mô tả này, các phần tử PEG được liên hợp, thông qua gắn cộng hóa trị, với polypeptit. Các polypeptit u-PA được sửa đổi để PEGyl hóa có thể được điều chế mà không cần thay thế C122S; thay vào đó, C122 có thể đóng vai trò như một vị trí để liên hợp với gốc PEG và/hoặc để hình thành liên kết disulfua mong muốn, như cho dạng hoạt hóa hai chuỗi hoặc dime.

Kỹ thuật cho PEGyl hóa bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các gen liên kết chuyên biệt và các hóa chất kết hợp (xem, ví dụ, Harris, *Adv. Drug Deliv. Rev*. 54:459-476, 2002), gắn nhiều gốc PEG vào một vị trí liên hợp duy nhất (như thông qua việc sử dụng PEG phân nhánh; xem, ví dụ: Veronese *et al., Bioorg. Med. Chem. Lett*. 12:177-180, 2002), PEGyl hóa theo vị trí cụ thể và/hoặc PEGyl hóa đơn (xem, ví dụ: Chapman *et al., Nature Biotech*. 17:780-783, 1999), và PEGyl hóa enzym hướng vào vị trí (xem, ví dụ, Sato, *Adv. Drug Deliv. Rev*., 54:487-504, 2002). Các phương pháp và kỹ thuật được mô tả trong phần này có thể tạo ra các protein có 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 hoặc hơn 10 dẫn xuất PEG hoặc PEG gắn với một phân tử protein đơn lẻ (xem, ví dụ: công bố đơn sáng chế Mỹ số 2006/0104968).

b. Protein dung hợp và các thể liên hợp khác

Sáng chế đề xuất thể liên hợp của u-PA và polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này. Thể liên hợp làm ví dụ là protein dung hợp được lấy ví dụ trong các Ví dụ 14-16. Như được mô tả trong bản mô tả này, một số chất liên hợp khi được hoạt hóa bằng cách phân cắt polypeptit hoạt hóa bao gồm sẽ tạo thành polypeptit u-PA được hoạt hóa hai chuỗi; những thứ khác, như những miền chứa miền Fc có thể tạo thành chuỗi kéo thông qua liên kết của miền Fc. Một số khác chứa các trình tự, như SUMO và HIS-SUMO tạo điều kiện thuận lợi cho việc biểu hiện và phân lập/thanh lọc. Ví dụ 14 và 15, và cả Hình 1-4, mô tả và mô tả các liên từ tạo thành. Để sử dụng làm dược phẩm, các polypeptit u-PA biến đổi thường được cung cấp ở dạng hoạt hóa, như dạng hoạt hóa hai chuỗi. Điều này được hiểu rằng phần thảo luận sau đây mô tả các polypeptit dung hợp có thể bao gồm các trình tự tín hiệu và các trình tự quy định khác sẽ không xuất hiện trong sản phẩm khi được sản xuất. Đặc biệt, polypeptit dung hợp có thể bao gồm các trình tự hoạt hóa, theo đó khi phân cắt, polypeptit tạo thành là polypeptit được hoạt hóa hai chuỗi. Nói chung, các dạng polypeptit được hoạt hóa sẽ là dược phẩm được sử dụng cho đối tượng.

i. Protein dung hợp làm ví dụ và các thể liên hợp protein khác

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được dung hợp với các polypeptit khác và phần của chúng và với gốc để tạo ra tính chất mong muốn, như tăng thời gian bán hủy trong huyết thanh và/hoặc giảm khả năng sinh miễn dịch và/hoặc các đặc tính khác. Chúng bao gồm, ví dụ, dung hợp với albumin, dung hợp để nhắm đích gốc, như kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, dung hợp với globulin miễn dịch, dung hợp Fc, biến đổi mẫu glycosyl hóa, Farnesyl hóa và biến đổi khác này (xem, Strohl (2015) *BioDrugs* 29:215-239 để xem xét nhiều loại protein dung hợp để cải thiện tính chất dược động học của protein điều trị). Phương thức bất kỳ để thay đổi tính chất dược lý của phương pháp điều trị đều có thể được áp dụng cho polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này. Thông thường, khi biến đổi là polypeptit hoặc một phần của chúng, u-PA biến đổi được sản xuất dưới dạng protein dung hợp. Đối với biến đổi không phải polypeptit, như pegyl hóa, biến đổi được thực hiện trên protein phân lập. Polypeptit u-PA biến đổi bao gồm polypeptit có Cys ở gốc 122 (theo số chymotrypsin), để cung cấp vị trí cho biến đổi sau dịch mã hoặc sau tinh chế. Polypeptit u-PA biến đổi bao gồm polypeptit có chiều dài đầy đủ và phần có hoạt

tính xúc tác của chúng, như miền proteaza, hoặc polypeptit trưởng thành hoặc polypeptit hai chuỗi hoạt hóa.

Protein dung hợp chứa polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này và một hoặc nhiều polypeptit khác cũng được đề xuất. Dược phẩm chứa protein dung hợp này được bào chế để sử dụng theo đường thích hợp. Protein dung hợp được hình thành bằng cách liên kết theo thứ tự bất kỳ giữa polypeptit u-PA biến đổi và polypeptit khác, như kháng thể hoặc đoạn của chúng, yếu tố tăng trưởng, thụ thể, phối tử và các tác nhân khác nhằm mục đích tạo điều kiện tinh chế proteaza, làm thay đổi đặc tính dược lực học của polypeptit u-PA được sửa đổi bằng cách hướng polypeptit u-PA đến tế bào hoặc mô đích và/hoặc tăng sự biểu hiện hoặc tiết polypeptit u-PA. Trong protein dung hợp polypeptit u-PA, polypeptit u-PA có thể là tất cả hoặc một phần có hoạt tính xúc tác của polypeptit u-PA hoặc phần có hoạt tính xúc tác của polypeptit u-PA và một phần khác của u-PA là không có độ dài đầy đủ u-PA. Các protein dung hợp được đề xuất trong bản mô tả này về cơ bản giữ lại tất cả độ đặc hiệu và/hoặc tính chọn lọc của chúng đối với protein bổ thể C3. Nói chung, polypeptit dung hợp u-PA giữ lại ít nhất khoảng 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90% hoặc 95% độ đặc hiệu cơ chất và/hoặc độ chọn lọc so với u không dung hợp. Polypeptit -PA, bao gồm 96%, 97%, 98%, 99% hoặc độ đặc hiệu cơ chất lớn hơn so với polypeptit u-PA không dung hợp.

ii. Tạo ra cấu trúc

Protein dung hợp u-PA có thể được sản xuất bằng kỹ thuật tái tổ hợp tiêu chuẩn. Ví dụ, mảnh ADN mã hóa các trình tự polypeptit khác nhau có thể được nối với nhau trong khung theo kỹ thuật thông thường, ví dụ, bằng cách sử dụng đầu tận có đầu cùn hoặc đầu nhọn để thắt, phân hủy bằng enzym giới hạn để cung cấp cho đầu tận thích hợp, điền vào của đầu kết dính khi thích hợp, xử lý phosphataza kiềm để tránh nối không mong muốn và thắt bằng enzym. Theo phương án khác, gen dung hợp có thể được tổng hợp bằng kỹ thuật thông thường bao gồm cả bộ tổng hợp ADN tự động. Ngoài ra, việc khuếch đại PCR của mảnh gen có thể được thực hiện bằng cách sử dụng trình tự mồi neo làm phát sinh phần nhô ra bổ thể giữa hai đoạn gen liên tiếp mà sau đó có thể được ủ và tái khuếch đại để tạo ra trình tự gen khảm (xem, ví dụ, Ausubel *et al.* (eds.) CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, 1992). Nhiều vectơ biểu hiện có sẵn trên thị trường mã hóa gốc dung hợp (ví dụ, thẻ his, polypeptit SUMO hoặc polypeptit GST). Axit nucleic mã hóa u-PA có thể được nhân

dòng thành vectơ biểu hiện sao cho gốc dung hợp được liên kết trong khung với polypeptit u-PA.

Vectơ biểu hiện làm ví dụ bao gồm vectơ biểu hiện động vật có vú bất kỳ như, ví dụ, pCMV. Để biểu hiện vi khuẩn, vectơ này bao gồm pBR322, pUC, pSKF, pET23D, và vectơ dung hợp như MBP, GST và LacZ. Các vectơ có nhân điển hình khác, ví dụ bất kỳ chứa yếu tố điều hòa từ virut có nhân điển hình, có thể được sử dụng làm vectơ biểu hiện có nhân điển hình. Chúng bao gồm, ví dụ, vectơ SV40, vectơ virut papilloma, và vectơ có nguồn gốc từ virut Epstein-Bar. Vectơ có nhân điển hình làm ví dụ bao gồm pMSG, pAV009/A+, pMT010/A+, pMAMneo-5, baculovirut pDSCE, và vectơ khác bất kỳ cho phép biểu hiện của protein theo hướng của trình tự khởi động CMV, trình tự khởi động sớm SV40, trình tự khởi động muộn SV40, trình tự khởi động metallothionein, trình tự khởi động virus khối u tuyến vú, trình tự khởi động virus sarcoma Rous, trình tự khởi động đa diện, hoặc các trình tự khởi động khác cho thấy hiệu quả đối với sự biểu hiện ở sinh vật nhân chuẩn.

iii. Trình tự tín hiệu

Protein dung hợp u-PA có thể chứa một peptit tín hiệu (SP hoặc chuỗi tín hiệu hoặc tín hiệu bản địa hóa hoặc peptit dẫn đầu) để vận chuyển trực tiếp proteaza. Các peptit tín hiệu là các mô típ trình tự được tìm thấy ở đầu tận cùng N của các protein mới sinh, mục tiêu là các protein để chuyển vị qua màng lưới nội chất đến đích cụ thể của chúng trong tế bào hoặc bên ngoài tế bào nếu protein được tiết ra. Do đó, việc lựa chọn SP và điều chỉnh SP ảnh hưởng đến việc nhắm mục tiêu protein (Zhang *et al.* (2005) *J Gene Med* 7:354-365). Các SP được tối ưu hóa đã được phát triển để hoạt động hiệu quả hơn. Mô hình và thuật toán tính toán đã được phát triển để dự đoán hiệu quả của SP và xác định trình tự đồng thuận SP (Burdukiewicz et al. (2018) Int J Mol Sci 19(12): 3709; Peason et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85*:2444-2448).

Các protein khác nhau được biết là có SP, bao gồm nhưng không bị giới hạn ở: thụ thể (hạt nhân, xuyên màng 4, bắt cặp với protein G và tyrosin kinaza), xytokin (chemokin), hormon (yếu tố tăng trưởng và biệt hóa), neuropeptit và chất vận mạch, protein kinaza, phosphataza, phospholipaza, phosphodiesteraza, nucleotit cyclases, phân tử nền (kết dính, cadherin, phân tử nền ngoại bào, integrin và selectin), protein G, kênh ion (canxi, clorua, kali và natri), proteaza, chất vận chuyển/bơm (axit amin, protein,

đường, kim loại và vitamin; canxi, photphat, kali, và natri) và protein điều hòa. Trong một số ví dụ, peptit tín hiệu ban đầu được tối ưu hóa để tiết protein trong tế bào chủ mong muốn được chọn để sản xuất. Polypeptit u-PA, như miền proteaza u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này, có thể được dung hợp, trực tiếp hoặc gián tiếp, với peptit tín hiệu không phải uPA để nhắm đích u-PA.

Peptit tín hiệu có thể là các peptit tín hiệu của kháng thể như peptit tín hiệu của chuỗi kháng thể nặng và chuỗi kháng thể nhẹ. Mẫu của kháng thể có thể bao gồm, nhưng không giới hạn, ở IgG, IgM, IgD, IgA và IgE. Do đó, chuỗi nặng có thể bao gồm chuỗi nặng gamma, mu, delta, alpha và epsilon, và chuỗi nhẹ có thể bao gồm chuỗi nhẹ kappa hoặc lambda. Các protein dung hợp u-PA nêu trong bản mô tả này có thể được điều chế bằng peptit tín hiệu kháng thể, như trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người, như trình tự tín hiệu được nêu trong SEQ ID NO: 999.

Các peptit tín hiệu làm ví dụ khác là những peptit có nguồn gốc từ interleukin-2 của người (IL-2) được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu và sản xuất protein (Bamford *et al.* (1998) *J Immunol* 160:4418; Komada *et al.* (1999) *Biol Pharm Bull* 22:846). Các IL-2 SP được biến đổi với tính bazơ và tính kỵ nước tăng lên đã được phát triển làm tăng bài tiết các protein dung hợp lên đến 3,5 lần (Zhang *et al.* (2005) *J. Gene Med.* 7:354). Các protein dung hợp u-PA trong bản mô tả này có thể được điều chế, ví dụ, bằng peptit tín hiệu IL-2, như peptit tín hiệu IL2 của người (hIL2SP), như trình tự tín hiệu được nêu trong SEQ ID NO: 1000.

Protein dung hợp u-PA làm ví dụ được nêu trong bản mô tả này có thể chứa peptit tín hiệu để vận chuyển trực tiếp proteaza. Ví dụ, polypeptit dung hợp u-PA được nêu dưới dạng SEQ ID NO: 1004, 1005, 1010, 1011, 1014-1018, 1036 và 1040 chứa chuỗi peptit tín hiệu đầu chuỗi nhẹ kappa (κ) của người (SEQ ID NO: 999). Trong một ví dụ khác, polypeptit dung hợp u-PA được đặt tên là SEQ ID NO: 1006-1009, 1012, 1013, 1034 và 1035 chứa trình tự Peptide tín hiệu IL2 (hIL2SP) của người (SEQ ID NO: 1000).

iii. Protein dung hợp làm ví dụ và gen liên kết peptit

Liên kết của polypeptit u-PA biến đổi và polypeptit khác có thể được thực hiện trực tiếp hoặc gián tiếp thông qua trình tự liên kết. Trong một ví dụ, liên kết có thể bằng liên kết hóa học, như thông qua chất dị chức năng hoặc liên kết thiol hoặc các liên kết khác này. Dung hợp giữa polypeptit u-PA với polypeptit khác có thể là đầu tận N hoặc

C của polypeptit u-PA biến đổi, như miền u-PA proteaza biến đổi. Ví dụ không giới hạn của polypeptit có thể được sử dụng trong protein dung hợp với polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này bao gồm, ví dụ, miền Fc từ globulin miễn dịch G, albumin huyết thanh (tức là albumin huyết thanh của người)), scFv liên kết với Collagen IIm (C2scFv), miền liên kết axit hyaluronic (HABD), polypeptit GST (glutathion S-transferaza), thẻ his (tức là HHHHHH), thẻ biến đổi giống ubiquitin nhỏ (SUMO), polypeptit thẻ cúm hemagglutinin (HA) và kháng thể 12CA5 của nó, và/hoặc trình tự tín hiệu dị hợp (ví dụ, từ thrombin hoặc vùng V-III chuỗi Ig kappy của chuột (IgGκ) hoặc Interleukin-2 của người (hIL2)). Protein dung hợp có thể chứa thành phần bổ sung, như protein liên kết maltoza của *E. coli* (MBP) hỗ trợ tế bào hấp thụ protein (xem, công bố đơn quốc tế PCT số WO 01/32711).

Trình tự liên kết peptit có thể được bao gồm trong protein dung hợp u-PA. Theo một ví dụ, các liên kết peptit có thể được dung hợp với đầu tận cùng C của polypeptit thứ nhất và đầu N của polypeptit thứ hai. Cấu trúc này có thể được lặp lại nhiều lần sao cho ít nhất một, và tùy chọn 2, 3, 4 hoặc nhiều polypeptit được liên kết với nhau thông qua các liên kết peptit tại các termini tương ứng của chúng. Ví dụ: một protein dung hợp có thể bao gồm trình tự XYZ, trong đó X là miền xúc tác u-PA kiểu dại hoặc được sửa đổi, Y là trình tự liên kết peptit và Z là tất cả hoặc một phần của đối tác dung hợp (ví dụ: HSA, Fc, HABD hoặc C2 scFv). Trong một số trường hợp, X là tất cả của một u-PA được sửa đổi bao gồm đầu cuối N của u-PA và miền proteaza của u-PA. Trong các trường hợp khác, X là một phần của u-PA được sửa đổi bao gồm 12 axit amin ngược dòng trực tiếp của miền u-PA proteaza và miền u-PA proteaza. Trong một ví dụ khác, polypeptit có thể bao gồm trình tự A-X-Y-Z, trong đó "A" là một đối tác dung hợp khác, như polypeptit, được gọi là SUMO hoặc HIS-SUMO, tạo điều kiện thuận lợi cho việc biểu hiện và/hoặc phân lập polypeptit tạo thành.

Trình tự liên kết peptit thường bao gồm Gly, Ser và hỗn hợp của chúng, hoặc Ala và Prolin. Trình tự liên kết thường chứa từ hai đến 20 hoặc 25 gốc. Ví dụ của trình tự liên kết peptit bao gồm, nhưng không giới hạn ở: __Gly-Gly__, GSG, AGS (SEQ ID NO:1003), GGGGS (SEQ ID NO:1001), GGSSGG (SEQ ID NO:1002), SSSSG (SEQ ID NO:1024), GKSSGSGSESKS (SEQ ID NO:1025), GGSTSGSGKSSEGKG (SEQ ID NO:1026), GSTSGSGKSSEGSGSTKG (SEQ ID NO:1027),

GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO:1028), EGKSSGSGSES AlaAlaProAla hoặc (AlaAlaProAla)n (SEQ ID NO:1030), trong đó n là 1 đến 6, như 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6.

Ví dụ, gốc liên kết được mô tả trong Huston *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:5879-5883, Whitlow *et al.* (1993) *Protein Engineering* 6:989-995, và Newton *et al.*, (1996) *Biochemistry* 35:545-553. Các gen liên kết peptit phù hợp khác bao gồm bất kỳ chất nào được mô tả trong Số bằng sáng chế Hoa Kỳ. 4,751,180 hoặc 4,935,233. Một polynucleotit mã hóa gen liên kết peptit mong muốn có thể được chèn vào giữa và trong cùng khung đọc với polynucleotit mã hóa tất cả hoặc một phần của u-PA bao gồm miền u-PA proteaza, sử dụng bất kỳ kỹ thuật thông thường thích hợp nào. Trong một ví dụ, protein dung hợp chứa polypeptit u-PA, ví dụ miền u-PA proteaza và đối tác dung hợp, như HSA, Fc, HABD hoặc C2 scFv, được phân cắt bằng (các) gen liên kết peptit.

Polypeptit dung hợp u-PA làm ví dụ bao gồm gen liên kết ở đầu tận C của miền proteaza u-PA liên kết miền proteaza u-PA với đối tác dung hợp đầu tận C, như HSA hoặc Fc. Các phân tử u-PA-trình tự liên kết-Fc và u-PA-trình tự liên kết-HSA có thể chứa một thẻ epitope và/hoặc một tín hiệu để biểu hiện và bài tiết. Một protein dung hợp u-PA -trình tự liên kết-Fc được làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO: 1018, chứa trình tự peptide tín hiệu dẫn đầu chuỗi nhẹ kappa (κ) của người (SEQ ID NO: 999), HIS-SUMO (SEQ ID NO:990), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 21), gen liên kết (SEQ ID NO: 1002) và đoạn Fc của chuỗi nặng IgG1 ở người (SEQ ID NO: 992).

Trong các ví dụ khác, protein dung hợp u-PA làm ví dụ là polypeptit dung hợp u-PA-trình tự liên kết-HSA, như protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO:1015-1017. Ví dụ, polypeptit dung hợp được nêu trong SEQ ID NO:1015 chứa chuỗi peptit tín hiệu đầu chuỗi nhẹ kappa (κ) ở người (SEQ ID NO:999), miền tận cùng N của u-PA (SEQ ID NO: 1042), trình tự hoạt hóa u-PA kiểu dại (SEQ ID NO: 997), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 987), trình tự liên kết (SEQ ID NO: 1002) và HSA (SEQ ID NO: 991). Trong ví dụ khác, polypeptit dung hợp được nêu trong SEQ ID NO:1016 chứa trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người (SEQ ID NO: 999), vị trí hoạt hóa furin trong trình tự hoạt hóa u-PA (SEQ ID NO:996), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 21), trình tự liên kết (SEQ ID NO: 1002) và HSA (SEQ ID NO:991). Trong ví dụ khác, polypeptit dung hợp được nêu trong SEQ ID NO:1017 chứa trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người (SEQ

ID NO: 999), HIS-SUMO (SEQ ID NO: 990), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 21), trình tự liên kết (SEQ ID NO: 1002) và HSA (SEQ ID NO:991).

Trong các ví dụ khác, gen liên kết nằm ở đầu cuối N của miền proteaza u-PA và liên kết miền proteaza với đối tác dung hợp tận cùng N. Ví dụ, protein dung hợp có thể chứa Fc đầu N liên kết với u-PA. Polypeptit dung hợp FC-linker-u-PA được làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO: 1004, chứa trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu chuỗi nhẹ kappa (human) của người (SEQ ID NO: 999), một đoạn Fc của IgG1 ở người chuỗi nặng (SEQ ID NO: 992), gen liên kết (SEQ ID NO: 1003), trình tự hoạt hóa u-PA kiểu dại (SEQ ID NO: 997) và miền proteaza u-PA (SEQ ID NO:987).

iv. Đối tác dung hợp

Protein dung hợp, như protein dung hợp chứa dung hợp với Fc, dung hợp với albumin huyết thanh của người (HSA), dung hợp với kháng thể biến đổi mảnh đơn chuỗi (scFv), như scFv liên kết với Collagen II (C2scFv), dung hợp với HABD và dung hợp với polypeptit khác, được biết đến là những sửa đổi để cải thiện dược động học của peptit hoặc thuốc sinh học. Cũng trong số này là sự liên hợp với poly-ethylene glycol monomethoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh (PEG), dẫn đến tăng khối lượng phân tử và bán kính thủy động, và giảm tốc độ lọc cầu thận của thận. Một cách tiếp cận khác để cải thiện các thông số dược động học bao gồm sửa đổi các mô hình glycosyl hóa, dẫn đến giảm độ thanh thải và kéo dài thời gian bán rã.

Polypeptit dung hợp u-PA làm ví dụ bao gồm vị trí của đối tác dung hợp (tức là HSA, HABD, C2 scFv hoặc Fc) đầu N vào miền u-PA proteaza hoặc đầu C vào miền u-PA proteaza. Ví dụ về protein dung hợp u-PA trong đó đối tác dung hợp là đầu N đối với miền u-PA proteaza được quy định trong SEQ ID NO: 1004. Ví dụ về protein dung hợp u-PA trong đó đối tác dung hợp là đầu C của vùng u- Miền PA proteaza được nêu trong SEQ ID NO: 1006-1018.

(a) Miền Fc

Một số ví dụ của protein dung hợp u-PA bao gồm chuỗi nặng của polypeptit globulin miễn dịch, hầu hết thường là miền hằng định của chuỗi nặng. Trình tự làm ví dụ của miền hằng định chuỗi nặng đối với loại phụ IgG của người được nêu trong SEQ ID NO: 45 (IgG1), SEQ ID NO: 1020 (IgG2), SEQ ID NO: 1021 (IgG3) và SEQ ID NO: 1022 (IgG4). Ví dụ, đối với vùng hằng định chuỗi nặng làm ví dụ được nêu trong

SEQ ID NO: 45, miền C_H1 tương ứng với axit amin 1-98, vùng bản lề tương ứng với axit amin 99-110, miền C_H2 tương ứng với axit amin 111- 223, và miền CH3 tương ứng với axit amin 224-330.

Theo một ví dụ, protein dung hợp u-PA có thể bao gồm vùng Fc của polypeptit globulin miễn dịch, như immunoglobulin của người. Thông thường, sự dung hợp như vậy giữ lại ít nhất một bản lề hoạt động về mặt chức năng, các miền C_H2 và C_H3 của vùng không đổi của chuỗi nặng immunoglobulin. Ví dụ, trình tự Fc có chiều dài đầy đủ của IgG1 bao gồm các axit amin 105-330 của trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 45. Trình tự Fc ví dụ cho hIgG1 được nêu trong SEQ ID NO: 992 và 1023, và chứa gần như tất cả trình tự bản lề tương ứng với các axit amin 100-110 của SEQ ID NO: 45, và trình tự hoàn chỉnh cho miền C_H2 và C_H3 là được nêu trong SEQ ID NO: 45. Một polypeptit Fc mẫu khác được nêu trong ứng dụng PCT WO 93/10151 và là polypeptit chuỗi đơn kéo dài từ vùng bản lề đầu N đến đầu tận cùng C bản địa của vùng Fc của kháng thể IgG1 của người (SEQ ID NO: 50). Vị trí chính xác mà tại đó liên kết được thực hiện không quan trọng: các vị trí cụ thể được biết đến nhiều và có thể được lựa chọn để tối ưu hóa hoạt tính sinh học hoặc tính ổn định của polypeptit u-PA. Ví dụ, các trình tự polypeptit Fc được lấy làm ví dụ khác bắt đầu từ axit amin C109 hoặc P113 của trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 45 (xem ví dụ: công bố Mỹ số 2006/0024298).

Ngoài hIgG1 Fc, các vùng Fc khác cũng có thể được bao gồm trong protein dung hợp u-PA được đề xuất trong bản mô tả này. Ví dụ, khi các chức năng của tác nhân tác động được trung gian bởi tương tác Fc/FcγR được giảm thiểu, thì việc dung hợp với các isotype IgG thu nạp kém các tế bào bổ thể hoặc tế bào hiệu ứng, như Fc của IgG2 hoặc IgG4, được dự tính. Ngoài ra, dung hợp Fc có thể chứa các trình tự immunoglobulin được mã hóa về cơ bản bởi các gen immunoglobulin thuộc bất kỳ lớp kháng thể nào, bao gồm, nhưng không giới hạn ở IgG (bao gồm các phân lớp IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4), IgA (bao gồm cả các phân lớp người) Các lớp kháng thể IgA1 và IgA2), IgD, IgE và IgM. Hơn nữa, các trình tự liên kết có thể được sử dụng để liên kết cộng hóa trị Fc với một polypeptit khác để tạo ra thể khảm Fc.

Miền Fc biến đổi cũng được dự liệu trong bản mô tả này để sử dụng ở thể khảm với polypeptit dung hợp u-PA. Theo một số ví dụ, vùng Fc được biến đổi sao cho nó biểu hiện liên kết thay đổi với FcR vì vậy phải dẫn đến chức năng tác động thay đổi (tức là nhiều hoặc ít hơn) so với chức năng tác động của vùng Fc của chuỗi nặng globulin

miễn dịch kiểu dại. Do đó, miền Fc biến đổi có thể làm thay đổi ái lực, bao gồm nhưng không bị giới hạn ở, tăng hoặc thấp hoặc không có ái lực với thụ thể Fc. Ví dụ, các phân lớp IgG khác nhau có các ái lực khác nhau đối với FcγR, với IgG1 và IgG3 thường liên kết tốt hơn đáng kể với thụ thể so với IgG2 và IgG4. Các FcγR khác nhau làm trung gian cho các chức năng hiệu ứng khác nhau. FcγR1, FcγRIIa/c, và FcγRIIIa là chất điều hòa dương hoạt hóa phức hợp miễn dịch được hoạt hóa, được đặc trưng bởi có miền nội bào có môtíp hoạt hóa dựa trên tyrosin thụ thể miễn dịch (ITAM). Tuy nhiên, FcγRIIb có môtíp ức chế dựa trên tyrosin thụ thể miễn dịch (ITIM) và do đó có tính ức chế. Trong một số trường hợp, protein dung hợp polypeptit-Fc u-PA được đề xuất trong bản mô tả này có thể được biến đổi để tăng cường liên kết với protein bổ thể C1q. Hơn nữa, Fc có thể được biến đổi để thay đổi liên kết của nó với FcRn, do đó cải thiện dược động học của polypeptit dung hợp u-PA-Fc. Do đó, việc thay đổi ái lực của vùng Fc đối với thụ thể có thể điều hòa chức năng của cơ quan tác dụng và/hoặc tính chất dược động học liên quan đến miền Fc. Miền Fc biến đổi được biết đến với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực và được mô tả trong tài liệu, xem ví dụ patent Mỹ số 5,457,035; công bố đơn Mỹ số US 2006/0024298; và công bố đơn quốc tế số WO 2005/063816 cho biến đổi làm ví dụ.

Theo một số ví dụ, một polypeptit u-PA được tạo thành. Thông thường, một polypeptit polypeptit là một hợp chất của hai protein chimeric được tạo ra bằng cách liên kết, trực tiếp hoặc gián tiếp, hai trong số polypeptit u-PA giống nhau hoặc khác nhau, như miền u-PA proteaza, với polypeptit Fc. Trong một số ví dụ, sự dung hợp gen mã hóa protein dung hợp u-PA-Fc được chèn vào một vectơ biểu hiện thích hợp. Các protein dung hợp u-PA-Fc thu được có thể được biểu hiện trong các tế bào chủ được biến nạp với vectơ biểu hiện tái tổ hợp và được phép lắp ráp giống như các phân tử kháng thể, trong đó các liên kết disulfua liên chuỗi hình thành giữa các phần tử Fc để tạo ra polypeptit u-PA hóa trị hai.

Polypeptit dung hợp u-PA chứa vùng Fc cũng có thể được xử lý di truyền để bao gồm thẻ có chelat kim loại hoặc epitop khác. Miền được gắn thẻ có thể được sử dụng để tinh chế nhanh bằng sắc ký chelat kim loại và/hoặc bằng kháng thể, để cho phép phát hiện thấm tách western, kết tủa miễn dịch hoặc sự suy giảm/phong bế hoạt tính trong thử nghiệm sinh học.

Polypeptit dung hợp u-PA-Fc làm ví dụ bao gồm dung hợp của miền proteaza u-PA và Fc. Protein dung hợp u-PA-Fc làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO: 1004, 1006, 1010, 1011, 1012 và 1018. Phân tử u-PA-Fc tùy ý có thể chứa thẻ epitop hoặc tín hiệu để biểu hiện và bài tiết. Ví dụ, polypeptit dung hợp u-PA -Fc được lấy làm ví dụ được đặt tên là SEQ ID NO: 1004, 1010 và 1011 chứa trình tự peptit tín hiệu đầu chuỗi kappa (κ) của người (SEQ ID NO: 999), một đoạn Fc của chuỗi nặng IgG1 của người (SEQ ID NO: 992) và miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 21 hoặc 987) hoặc đầu cuối N (SEQ ID NO: 1004) hoặc đầu C (SEQ ID NO: 1010 và 1011) đến Fc. Trong một ví dụ khác, polypeptit dung hợp u-PA -Fc được lấy làm ví dụ đặt tên là SEQ ID NO: 1006 và 1012 chứa trình tự Peptide tín hiệu IL2 của người (hIL2SP) (SEQ ID NO: 1000), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 5 hoặc 21), và một đoạn Fc của chuỗi nặng IgG1 ở người (SEQ ID NO: 992) đầu N tới vùng u-PA proteaza.

(b) Albumin huyết thanh

Protein dung hợp u-PA có thể được tạo ra với albumin như một đối tác dung hợp để tăng thời gian bán hủy, độ ổn định, sinh khả dụng, phân bố và/hoặc cải thiện dược động học của u-PA. Nhiều sản phẩm có liên quan đến albumin huyết thanh người (HSA) được chấp thuận để sử dụng như liệu pháp điều trị, bao gồm cả việc sử dụng như liệu pháp điều trị ung thư và điều trị bệnh tiểu đường loại 2 (AlQahtani *et al.* (2019) *Biomed and Pharmacotherapy* 113:108750; Roscoe *et al.*, (2018) *Mol. Pharmaceutics* 151:15046-5047; Strohl, W.R. (2015) *BioDrugs* 4:215-239). Trong một số ví dụ, protein HSA trưởng thành, thiếu trình tự tín hiệu và trình tự hoạt hóa được dung hợp với protein quan tâm. Trong một số ví dụ về protein dung hợp u-PA, albumin huyết thanh, như albumin huyết thanh người (HSA), được liên hợp với u-PA, như miền u-PA proteaza. Một HSA mẫu mực được nêu trong SEQ ID NO: 991.

Polypeptit dung hợp u-PA-HSA bao gồm dung hợp của miền proteaza u-PA và HSA. Polypeptit dung hợp u-PA-HSA làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO: 1007 và 1013-1017. Phân tử u-PA-HSA tùy ý có thể chứa thẻ epitop và/hoặc tín hiệu để biểu hiện và tiết. Ví dụ, polypeptit dung hợp u-PA-HSA làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO:1014-1017 chứa trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người (SEQ ID NO: 999), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 987 hoặc 21) và HSA đầu tận C (SEQ ID NO:991). Trong ví dụ khác, polypeptit dung hợp u-PA-HSA làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO:1013 chứa trình tự peptit tín hiệu IL2 (hIL2SP)

của người (SEQ ID NO: 1000), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO:5) và HSA đầu tận C (SEQ ID NO:991).

(c) scFv liên kết Collagen II (C2scFv)

Mảnh kháng thể tái tổ hợp ở dạng kháng thể biến đoạn chuỗi đơn (scFv), như scFv liên kết với Collagen II (C2scFv), có thể được sử dụng làm đối tác dung hợp với u-PA. Các kháng thể scFv được tạo ra từ màn hình phage có thể được dung hợp với các chất đánh dấu, hoặc các protein hoạt động hoặc điều trị (Ahmad và cộng sự (2012) Clin Dev Immunol 2012: 980250). Sự kết hợp giữa các scFv có thể được sử dụng để tăng năng suất và hoạt tính của protein liên hợp (Martin *et al.,* (2006) *BMC Biotech* 6:46).

Kháng thể biến đổi mảnh đơn chuỗi bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) và nhẹ (VL) được nối với nhau bằng liên kết peptit hoặc liên kết disulfua (Glockshuber *et al.* (1990) *Biochemistry* 29(6):1362–1367). Trình liên kết peptit đóng một vai trò quan trọng trong việc gấp chuỗi polypeptit. Các chất liên kết thường được sử dụng bao gồm các gốc Gly và Ser để có tính linh hoạt hoặc Glu và Lys để tăng cường khả năng hòa tan (Whitlow *et al.* (1993) *Protein Engineering* 6(8):989–995).

scFv có thể được dung hợp với protein để phân phối cụ thể đến các tế bào trình diện kháng nguyên (Ahmad *et al.* (2012) Clin Dev Immunol 2012:980250). Ví dụ, scFv có thể được tạo ra để nhắm mục tiêu collagen II, như để sử dụng làm tác nhân nghiên cứu và như một chất phân phối các phân tử điều trị đến các vị trí biểu hiện collagen II ở người. Ví dụ, scFv là một kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc đoạn của nó liên kết với collagen II của người, bao gồm vùng VH và vùng VL, trong đó C2scFv bao gồm trình tự axit amin có trình tự được hiển thị trong SEQ ID NO: 993.

Polypeptit dung hợp u-PA-C2scFv làm ví dụ bao gồm dung hợp miền u-PA proteaza và C2scFv. Một protein dung hợp u-PA-C2scFv mẫu được nêu trong SEQ ID NO: 1008. Các phân tử u-PA-C2scFv tùy ý có thể chứa một thẻ epitope hoặc một tín hiệu để biểu hiện và bài tiết. Ví dụ: polypeptit dung hợp u-PA-C2scFv được lấy làm ví dụ được đặt tên là SEQ ID NO: 1008 chứa trình tự Peptide tín hiệu IL2 của người (hIL2SP) (SEQ ID NO: 1000), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 21), và C2scFv đầu tận C (SEQ ID NO:993).

(d) Miền liên kết axit hyaluronic (HABD)

Theo một số ví dụ, protein dung hợp u-PA chứa đối tác dung hợp HABD, như yếu tố gây hoại tử khối u-yếu tố kích thích gen-6 (TSG-6), như TSG-6 được đặt tên là SEQ ID NO: 994 (tương ứng với axit amin 32-134 của TSG-6 ở người; NCBI số NP_009046,2). Các protein dung hợp u-PA có thể được tạo ra với HABD, như TSG-6, như một đối tác dung hợp để tăng thời gian bán hủy, độ ổn định, khả năng sinh học, phân phối và/hoặc cải thiện dược động học của u-PA.

Gen được kích thích yếu tố gây hoại tử khối u 6 (TSG-6, yếu tố gây hoại tử khối u, protein 6, TNFAIP6; NCBI số NP_009046,2) là một glycoprotein được tiết ra ~ 35 kDa bao gồm một mô-đun liên kết đầu N đơn và C- miền CUB đầu cuối. Sự biểu hiện của TSG-6 được gây ra ở nhiều loại tế bào bởi các chất trung gian gây viêm, bao gồm các cytokine và các yếu tố tăng trưởng. Thông qua mô-đun liên kết của nó, đã được báo cáo là chứa khoảng axit amin 35-132, TSG-6 là một chất ức chế mạnh đối với sự di chuyển của bạch cầu đa nhân. TSG-6 tạo thành một phức hợp bền vững với chất ức chế serine proteaza Inter-alpha-In ức chế (IαI) và tăng cường hoạt động chống plasmin của IαI. TSG-6 cũng rất quan trọng đối với việc tạo thành và tái tạo lớp áo ngoài tế bào giàu HA và cơ chất ngoại bào.

Polypeptit dung hợp u-PA-HABD làm ví dụ bao gồm dung hợp miền u-PA proteaza và HABD. Một protein dung hợp u-PA- HABD mẫu được nêu trong SEQ ID NO: 1009. Các phân tử u-PA- HABD có thể, tùy ý, chứa một thẻ epitope hoặc một tín hiệu để biểu hiện và bài tiết. Ví dụ: polypeptit dung hợp u-PA-HABD được lấy làm ví dụ được đặt tên là SEQ ID NO: 1009 chứa trình tự peptit tín hiệu IL2 của người (hIL2SP) (SEQ ID NO: 1000), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 21), và HABD đầu tận C (SEQ ID NO:994).

v. Vị trí hoạt hóa

Protein dung hợp u-PA làm ví dụ chứa vị trí để hoạt hóa u-PA. Ví dụ, protein dung hợp u-PA chứa trình tự u-PA kiểu dại để tự hoạt hóa; chứa trình tự furin để hoạt hóa trong biểu hiện protein; hoặc được hoạt hóa sau khi phân cắt tín hiệu bài tiết, tất cả đều tạo ra proteaza u-PA hoạt hóa.

(a) Furin

Protein furin có liên quan đến quá trình trưởng thành endoproteolytic của protein tiền chất bất hoạt tại vị trí đồng thuận đơn lẻ, cặp đôi hoặc nhiều vị trí đồng thuận cơ

bản trong con đường tiết (Nakayama(1997) *Biochem*.J. 327:625-635; Seidah and Chretien, *Current Opinions in Biotechnology* (1997) 8:602-607). Khi vận chuyển protein tiền thân mới được tổng hợp từ lưới nội chất đến ngăn Golgi, propeptit được loại bỏ tự xúc tác trong sự kiện xử lý hai bước ở môtíp phân cắt furin (Leduc *et al.* (1992) *J.Biol.Chem* 267:14304-14308; Anderson *et al.* (1997) *EMBO* 1508-1518). Furin yêu cầu vị trí R-X-X-R để phân cắt và quá trình xử lý tối ưu xảy ra ở môtíp R-X-K/R-R (Molloy *et al.* (1992) *J. Biol Chem* 267:16396-16402). Trình tự hoạt hóa u-PA làm ví dụ, chứa vị trí phân cắt furin RRKR, được nêu trong SEQ ID NO: 995 và 996.

Protein dung hợp u-PA có thể bao gồm đầu tận N vị trí hoạt hóa furin với miền proteaza u-PA, sao cho protein u-PA được hoạt hóa trong quá trình biểu hiện. Hoạt hóa u-PA trong quá trình biểu hiện, như bằng cách bao gồm vị trí hoạt hóa furin trong trình tự hoạt hóa u-PA, nhằm loại bỏ sự cần thiết phải có bước hoạt hóa trong quá trình xử lý xuôi dòng.

Polypeptit dung hợp u-PA bao gồm vị trí hoạt hóa furin và vùng proteaza u-PA được tạo ra. Các protein furin-u-PA mẫu được quy định trong SEQ ID NO: 1010, 1014 và 1016. Các phân tử u-PA được hoạt hóa bởi Furin có thể chứa đối tác dung hợp và/hoặc tín hiệu để biểu hiện và bài tiết. Ví dụ, các protein dung hợp u-PA được lấy làm ví dụ đặt tên là SEQ ID NO: 1014 và 1016 chứa chuỗi peptit tín hiệu đầu chuỗi nhẹ kappa (κ) của người (SEQ ID NO: 999), vị trí hoạt hóa furin trong u-PA trình tự hoạt hóa (SEQ ID NO: 995 hoặc 996), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 21 hoặc 987) và HSA (SEQ ID NO: 991). Protein dung hợp u-PA được đặt tên là SEQ ID NO: 1014 còn chứa đầu tận cùng N của u-PA (được đặt là axit amin 21-178 của SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 1042), đầu cuối N đến miền proteaza furin-u-PA với miền proteaza u-PA được quy định trong SEQ ID NO: 987. Trong một ví dụ khác, protein dung hợp u-PA được đặt tên là SEQ ID NO: 1010 chứa chuỗi nhẹ kappa của immunoglobulin người (κ) trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu (SEQ ID NO: 999), vị trí hoạt hóa furin trong trình tự hoạt hóa u-PA (SEQ ID NO: 995), miền proteaza u-PA (SEQ ID NO: 21), và Fc (SEQ ID NO:992).

(b) u-Pa

Hoạt hóa tiền enzym u-PA xảy ra bằng cách phân cắt đầu tận N liên kết peptit đơn với miền xúc tác u-PA, bắt đầu thay đổi cấu trúc trong protein. Cấu trúc u-PA được tạo trong bản mô tả này có thể chứa trình tự hoạt hóa 12 axit amin u-PA (SEQ ID NO:

997) hoặc dạng biến đổi của chúng (SEQ ID NO: 998) hoặc có thể chứa phần mở rộng của đầu tận N u-PA bao gồm trình tự hoạt hóa, sao cho u-PA bao gồm polypeptit trưởng thành có chiều dài đầy đủ, như polypeptit được nêu trong SEQ ID NO: 3. Trong các ví dụ khác, u-PA bao gồm đầu tận N, như vùng đầu tận N của u-PA được nêu trong axit amin 21-178 của SEQ ID NO:1 hoặc SEQ ID NO: 1042 và trình tự hoạt hóa 12 axit amin u-PA (SEQ ID NO: 997) hoặc dạng biến đổi của trình tự hoạt hóa u-PA (SEQ ID NO: 998).

Protein dung hợp chứa polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này được chuẩn bị. Polypeptit dung hợp u-PA bao gồm kiểu dại hoặc vị trí hoạt hóa u-PA đã biến đổi và miền proteaza u-PA được tạo ra. Protein u-PA làm ví dụ chứa trình tự hoạt hóa u-PA kiểu dại để hoạt hóa được nêu trong SEQ ID NO: 1004, 1005, 1011 và 1015. Peptit dung hợp tùy ý có thể chứa đối tác dung hợp và/hoặc tín hiệu để biểu hiện và/hoặc tiết. Ví dụ, protein dung hợp u-PA làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO:1004 chứa trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người, (SEQ ID NO: 999), Fc (SEQ ID NO: 992), trình tự hoạt hóa u-PA (SEQ ID NO:995) và miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 987). Trong ví dụ khác, protein dung hợp u-PA được nêu trong SEQ ID NO: 1005 chứa trình tự u-PA trưởng thành có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 3 với miền proteaza biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 987) và trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người đầu cuối N (SEQ ID NO: 999). Trong ví dụ khác, protein dung hợp u-PA được nêu trong SEQ ID NO: 1011 chứa trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người đầu cuối N (SEQ ID NO: 999), trình tự trưởng thành có chiều dài đầy đủ u-PA (SEQ ID NO: 3 với miền proteaza biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 987) và Fc (SEQ ID NO: 992). Trong ví dụ khác, protein dung hợp u-PA được nêu trong SEQ ID NO:1015 chứa trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người của người, đầu cuối N của u-PA (được nêu như axit amin 21-178 của SEQ ID NO:1) bao gồm trình tự hoạt hóa u-PA, miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 987) và HSA (SEQ ID NO:991). Polypeptit u-PA biến đổi, như các polypeptit của SEQ ID No. 1006, 1007, 1009 và 1010, khi biểu hiện, đã chứng minh hoạt tính của proteaza u-PA. U-PA biến đổi với trình tự hoạt hóa furin ở đầu tận N thành u-PA với sự dung hợp Ig FC ở đầu tận C (như được nêu trong SEQ ID NO: 1010) thể hiện hoạt tính cao nhất.

vi. Thẻ tinh chế

Protein dung hợp u-PA làm ví dụ chứa thẻ để tinh chế u-PA hoặc protein dung hợp u-PA. Thẻ làm ví dụ để tinh chế protein dung hợp u-PA được nêu ở phần F, ở trên. Protein dung hợp u-PA làm ví dụ có thể chứa trình tự SUMO hoặc His để tinh chế.

(a) Thẻ His

Protein dung hợp u-PA có thể bao gồm thẻ His, như 6xHis được nêu trong SEQ ID NO: 989, và miền proteaza u-PA.

Polypeptit dung hợp u-PA bao gồm thẻ tinh chế His và miền proteaza u-PA được tạo ra. Protein dung hợp HIS-u-PA làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO: 1017 và 1018. Phân tử u-PA được gắn thẻ His tùy ý có thể chứa đối tác dung hợp, và/hoặc tín hiệu để biểu hiện và tiết. Ví dụ, protein dung hợp HIS-u-PA làm ví dụ được nêu dưới dạng SEQ ID NO: 1017 chứa trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người (SEQ ID NO: 999), 6xHis (SEQ ID NO:989), SUMO (SEQ ID NO:1031), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 21) và HSA (SEQ ID NO: : 991). Trong một ví dụ khác, protein dung hợp His được gắn thẻ-u-PA ví dụ được đặt tên là SEQ ID NO: 1018 chứa chuỗi peptit tín hiệu dẫn đầu chuỗi nhẹ kappa (human) của người (SEQ ID NO: 999), 6xHis (SEQ ID NO: 989), SUMO (SEQ ID NO: 1031), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 21) và Fc (SEQ ID NO: 992).

(b) SUMO

Protein dung hợp u-PA có thể bao gồm thẻ His và/hoặc trình tự SUMO để tích lũy trong kháng thể bao gồm có thể bao gồm. Ví dụ, trình tự HIS-SUMO được nêu trong SEQ ID NO: 990, và miền u-PA proteaza, có thể được liên kết với polypeptit u-PA biến đổi có chiều dài đầy đủ hoặc với phần có hoạt tính xúc tác của chúng, như miền proteaza, hoặc phần lớn hơn của polypeptit u-PA đã biến đổi. Polypeptit dung hợp u-PA bao gồm thẻ His-SUMO và miền u-PA proteaza được tạo ra. Protein HIS-SUMO-u-PA làm ví dụ được nêu trong SEQ ID NO: 1017 và 1018. Phân tử u-PA được gắn thẻ HIS-SUMO có thể chứa đối tác dung hợp và/hoặc tín hiệu để biểu hiện và tiết. Ví dụ, protein dung hợp His-SUMO-u-PA được nêu trong SEQ ID NO: 1017 chứa trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người (SEQ ID NO: 999), 6xHis (SEQ ID NO:989), SUMO (SEQ ID NO:1031), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 21) và HSA (SEQ ID NO:991). Trong ví dụ khác, protein dung hợp His-SUMO-u-PA được nêu trong

SEQ ID NO: 1018 chứa trình tự peptit tín hiệu dẫn đầu kappa (κ) chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người (SEQ ID NO: 999), 6xHis (SEQ ID NO:989), SUMO (SEQ ID NO:1031), miền u-PA proteaza (SEQ ID NO: 21), và Fc (SEQ ID NO:992).

7. Phân tử axit nucleic

Phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này. Phân tử axit nucleic bao gồm biến thể alen hoặc biến thể mối nối của polypeptit u-PA được mã hóa bất kỳ, hoặc phần có hoạt tính xúc tác của chúng. Theo một phương án, các phân tử axit nucleic được đề xuất trong bản mô tả này có ít nhất 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 hoặc 99% trình tự đồng nhất đến bất kỳ polypeptit u-PA được mã hóa bằng axit nucleic hoặc phần hoạt tính xúc tác của chúng. Theo một phương án khác, phân tử axit nucleic có thể bao gồm các phân tử có trình tự codon thoái biến của bất kỳ polypeptit u-PA nào hoặc các phần có hoạt tính xúc tác của chúng như được đề xuất trong bản mô tả này.

Phân tử axit nucleic, hoặc protein dung hợp chứa phần hoạt tính xúc tác của phân tử axit nucleic, được liên kết chức năng với promoter, như promoter cảm ứng để biểu hiện trong tế bào động vật có vú. Các trình thúc đẩy như vậy bao gồm, nhưng không giới hạn, các trình quảng bá CMV và SV40; adenovirus promoter, như promoter gen E2, đáp ứng với oncoprotein HPV E7; trình thúc đẩy PV, như trình khởi động PBV p89 đáp ứng với protein PV E2; và các trình tự khởi động khác được hoạt hóa bởi HIV hoặc PV hoặc chất gây ung thư.

Proteaza u-PA được đề xuất trong bản mô tả này, cũng có thể được phân phối đến tế bào trong vectơ truyền gen. Vectơ truyền cũng có thể mã hóa (các) tác nhân trị liệu bổ sung khác để điều trị bệnh hoặc rối loạn, như viêm khớp dạng thấp hoặc bệnh tim mạch hoặc AMD hoặc DGF, mà proteaza được sử dụng. Vectơ chuyển mã hóa proteaza có thể được sử dụng một cách hệ thống, bằng cách sử dụng axit nucleic cho đối tượng. Ví dụ, vectơ truyền có thể là vectơ virut, như vectơ adenovirut. Vectơ mã hóa proteaza cũng có thể được tích hợp vào tế bào gốc và tế bào gốc đó được sử dụng cho đối tượng, như bằng cách cấy ghép hoặc khắc tế bào gốc tại các vị trí để trị liệu. Ví dụ, tế bào gốc trung mô (MSC) có thể được thiết kế để biểu hiện proteaza và MSC này được khắc tại vị trí cấy ghép để trị liệu.

G. Chế phẩm, hợp phần và liều lượng

Dược phẩm chứa polypeptit u-PA biến đổi, protein dung hợp u-PA được biến đổi hoặc mã hóa các phân tử axit nucleic, có thể được bào chế theo bất kỳ cách thông thường nào bằng cách trộn một lượng polypeptit đã chọn với một hoặc nhiều chất mang hoặc tá dược chấp nhận được về mặt sinh lý. Theo hầu hết các phương án, polypeptit u-PA hoặc protein dung hợp được biến đổi sẽ ở dạng được hoạt hóa trong chế phẩm để sử dụng. Vì vậy, ví dụ, các polypeptit sẽ là hai dạng chuỗi hoạt hóa hoặc, trong đó protein dung hợp chứa miền đa hợp, protein có thể là một đa phân tử, như một chất dime.

Việc lựa chọn chất mang hoặc tá dược nằm trong kỹ năng của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể phụ thuộc vào một số thông số. Chúng bao gồm, ví dụ, cách sử dụng (tức là, toàn thân, uống, mũi, phổi, cục bộ, tại chỗ hoặc bất kỳ chế độ nào khác) và rối loạn được điều trị. Dược phẩm được đề xuất trong bản mô tả này có thể được bào chế để sử dụng một liều duy nhất (trực tiếp) hoặc để pha loãng hoặc sửa đổi khác. Nồng độ của các hợp chất trong công thức có hiệu quả để cung cấp một lượng, khi sử dụng, có hiệu quả cho việc điều trị dự kiến. Thông thường, các chế phẩm được bào chế để sử dụng một liều duy nhất. Để tạo thành một chế phẩm, phần trọng lượng của một hợp chất hoặc hỗn hợp của chúng được hòa tan, lơ lửng, phân tán hoặc trộn bằng cách khác trong một phương tiện đã chọn ở nồng độ hiệu quả sao cho tình trạng được xử lý được giảm bớt hoặc cải thiện. Chất vận chuyển dược phẩm hoặc phương tiện thích hợp để sử dụng các hợp chất được đề xuất trong bản mô tả này bao gồm bất kỳ chất vận chuyển nào như vậy mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết là phù hợp với phương thức sử dụng cụ thể.

1. Sử dụng polypeptit u-PA biến đổi

Với mục đích của phần này, polypeptit u-PA biến đổi dùng để chỉ polypeptit u-PA chứa biến đổi, như miền proteaza đã biến đổi và bao gồm liên hợp, như protein dung hợp. Polypeptit có thể được bào chế dưới dạng thành phần dược dụng duy nhất trong chế phẩm hoặc có thể được kết hợp với các thành phần hoạt tính khác. Polypeptit có thể được nhắm đích để phân phối, như bằng cách liên hợp với tác nhân nhắm đích, như kháng thể. Huyền phù liposom, bao gồm cả liposom nhắm đích vào mô, cũng có thể thích hợp làm chất mang dược dụng. Chúng có thể được chuẩn bị theo phương pháp mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết đến. Ví dụ, chế phẩm liposom có thể được điều chế như được mô tả trong patent Mỹ số 4,522,811. Phân phối liposom cũng có thể bao gồm chế phẩm giải phóng chậm, bao gồm ma trận dược phẩm như gel

collagen và liposom được biến đổi bằng fibronectin (ví dụ, xem Weiner *et al.* (1985) *J Pharm Sci.* 74(9): 922-5).

Hợp chất hoạt tính được bao gồm trong chất mang dược dụng với lượng đủ để phát huy tác dụng điều trị trong trường hợp không có tác dụng phụ không mong muốn đối với đối tượng được điều trị. Nồng độ hiệu quả điều trị có thể được xác định theo kinh nghiệm bằng cách thử nghiệm các hợp chất trong các hệ thống *in vitro* và *in vivo* đã biết, như thử nghiệm được đề xuất trong bản mô tả này.

Polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này (tức là hợp chất hoạt hóa) có thể được dùng *in vitro*, *ex vivo*, hoặc *in vivo* bằng cách cho tiếp xúc với hỗn hợp, như dịch cơ thể hoặc mẫu mô khác, với polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này, bao gồm bất kỳ polypeptit u-PA biến đổi nào được đề xuất trong bản mô tả này. Ví dụ, khi sử dụng một hợp chất ex vivo, dịch cơ thể, như dịch thủy tinh hoặc mẫu mô từ đối tượng có thể được tiếp xúc với polypeptit u-PA được phủ trên ống hoặc bộ lọc, như chất đúng hoặc lọc trong máy bỏ qua. Khi sử dụng *in vivo*, các hợp chất có hoạt tính có thể được sử dụng bằng bất kỳ đường thích hợp nào, ví dụ, đường uống, đường mũi, phổi, đường tiêm, đường tĩnh mạch, trong da, trong cơ thể, trong lỗ đít, dưới mũi, quanh da, tiêm dưới da, hoặc tại chỗ, ở dạng lỏng, bán lỏng hoặc dạng rắn và được bào chế theo cách phù hợp với từng đường dùng. Việc xác định liều lượng nằm trong kỹ năng của bác sĩ và có thể là một chức năng của rối loạn, đường dùng và đối tượng cụ thể. Các liều lượng ví dụ, bao gồm 0,1 mg.

Polypeptit u-PA đã biến đổi và muối và solvat được chấp nhận về mặt sinh lý có thể được bào chế để sử dụng bằng cách hít (qua miệng hoặc mũi), qua đường miệng, qua da, phổi, tiêm hoặc trực tràng. Đối với việc dùng bằng cách hít, polypeptit u-PA biến đổi có thể được phân phối dưới dạng phun khí dung từ gói điều áp hoặc máy phun sương với việc sử dụng chất đẩy thích hợp, ví dụ, diclodiflometan, tricloflometan, diclotetrafloetan, cacbon dioxit hoặc khí thích hợp khác. Trong trường hợp khí dung điều áp, đơn vị liều lượng có thể được xác định bằng cách cung cấp van để vận chuyển lượng đã định lượng. Viên nang và hộp mực, ví dụ, gelatin để sử dụng trong ống hít hoặc bình xịt, có thể được bào chế chứa hỗn hợp bột của hợp chất điều trị và nền bột thích hợp như lactoza hoặc tinh bột.

Để sử dụng qua đường phổi đến phổi, polypeptit u-PA đã được sửa đổi có thể được phân phối dưới dạng phun khí dung từ máy phun sương, máy xông khí dung hoặc ống hít định lượng liều được kiểm soát bằng bộ vi xử lý với việc sử dụng chất đẩy phù hợp. Nói chung, kích thước hạt của sol khí nhỏ, như trong khoảng 0,5 đến 5 micron. Trong trường hợp dược phẩm được bào chế để dùng cho phổi, chất hoạt động bề mặt chất tẩy rửa thường không được sử dụng. Phân phối thuốc qua đường phổi là một phương pháp toàn thân không xâm lấn đầy hứa hẹn. Phổi đại diện cho một con đường hấp dẫn để cung cấp thuốc, chủ yếu là do diện tích bề mặt cao để hấp thu, biểu mô phế nang mỏng, hệ mạch máu lan rộng, thiếu chuyển hóa qua gan lần thứ nhất và hoạt tính chuyển hóa tương đối thấp.

Đối với sử dụng qua đường miệng, dược phẩm có thể ở dạng, ví dụ, viên nén, thuốc viên, hỗn dịch lỏng, hoặc viên nang được bào chế bằng phương pháp thông thường với các tá dược dược dụng như các chất liên kết (ví dụ, tinh bột ngô biến tính, polyvinylpyrolidone hoặc hydroxypropyl metylxenluloza); chất độn (ví dụ, lactose, xenluloza vi tinh thể hoặc canxi hydro photphat); chất bôi trơn (ví dụ, magie stearat, talc hoặc silica); chất phân hủy (ví dụ, tinh bột khoai tây hoặc natri tinh bột glycolat); hoặc chất làm ướt (ví dụ, natri lauryl sulfat). Viên nén có thể được bọc bằng các phương pháp nổi tiếng trong lĩnh vực này. Các chế phẩm dạng lỏng để uống có thể ở dạng, ví dụ, dung dịch, xirô hoặc hỗn dịch, hoặc chúng có thể được trình bày dưới dạng sản phẩm khô để pha với nước hoặc phương tiện thích hợp khác trước khi sử dụng. Các chế phẩm lỏng như vậy có thể được điều chế bằng các phương pháp thông thường với các phụ gia dược dụng như chất tạo huyền phù (ví dụ, xi-rô sorbitol, dẫn xuất xenluloza hoặc chất béo ăn được hydro hóa); chất tạo nhũ (ví dụ, lecithin hoặc keo); các phương tiện không chứa nước (ví dụ, dầu hạnh nhân, este dầu, rượu etylic hoặc dầu thực vật được phân đoạn); và chất bảo quản (ví dụ, metyl hoặc propyl-p-hydroxybenzoat hoặc axit sorbic). Các chế phẩm cũng có thể chứa muối đệm, hương liệu, chất tạo màu và chất làm ngọt nếu thích hợp.

Chế phẩm để uống có thể được bào chế để giải phóng hợp chất hoạt động có kiểm soát. Đối với việc sử dụng buccal, chế phẩm có thể ở dạng viên nén hoặc viên ngậm được bào chế theo cách thông thường.

Polypeptit u-PA biến đổi có thể được bào chế như chế phẩm kho. Chế phẩm có hoạt tính kéo dài này có thể được dùng bằng cách cấy (ví dụ, dưới da hoặc bắp) hoặc

bằng cách tiêm bắp. Do đó, ví dụ, hợp chất điều trị có thể được bào chế bằng vật liệu polyme hoặc kỵ nước thích hợp (ví dụ, như nhũ tương trong dầu được chấp nhận) hoặc nhựa trao đổi ion, hoặc dưới dạng dẫn xuất ít hòa tan, ví dụ, như muối hòa tan ít.

Polypeptit u-PA biến đổi có thể được bào chế để dùng ngoài da bằng cách tiêm (ví dụ, bằng cách tiêm bolus hoặc truyền liên tục). Các công thức để tiêm có thể được trình bày dưới dạng đơn vị liều lượng (ví dụ, trong ống hoặc trong hộp đựng nhiều liều) với chất bảo quản được bổ sung. Các chế phẩm có thể ở các dạng như huyền phù, dung dịch hoặc nhũ tương trong xe dầu hoặc nước và có thể chứa các chất tạo công thức như chất tạo huyền phù, chất ổn định và/hoặc chất phân tán. Ngoài ra, thành phần hoạt chất có thể ở dạng bột đông khô để pha chế với một phương tiện thích hợp, ví dụ, nước không chứa pyrogen vô trùng, trước khi sử dụng.

Polypeptit u-PA đã được điều chỉnh có thể được bào chế để dùng trong mắt hoặc nhỏ mắt. Việc phân phối thuốc qua mắt có thể là, ví dụ, tại chỗ, uống hoặc toàn thân và/hoặc tiêm. Ví dụ, (các) polypeptit u-PA sửa đổi hoặc dược phẩm chứa (các) polypeptit u-PA đã biến đổi có thể được sử dụng tại chỗ, như dưới dạng thuốc nhỏ mắt. Trong một ví dụ khác, (các) polypeptit u-PA được sửa đổi hoặc dược phẩm chứa (các) polypeptit u-PA đã được sửa đổi có thể được sử dụng bằng cách sử dụng quanh mắt và/hoặc trong miệng hoặc trong mũi hoặc dưới màng não, ví dụ như, bằng đường ngoại nhãn, hoặc tiêm trong tai, hoặc tiêm trong cơ thể.

Polypeptit u-PA biến đổi hoặc dược phẩm chứa polypeptit u-PA sửa đổi hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA đã biến đổi có thể được bào chế để sử dụng toàn thân để điều trị DGF. Trong một ví dụ khác, polypeptit u-PA sửa đổi hoặc dược phẩm chứa polypeptit u-PA sửa đổi hoặc axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA sửa đổi được truyền hoặc tiêm trực tiếp vào thận hoặc vào các mô hoặc cơ quan lân cận hoặc xung quanh thận được cấy ghép. Các polypeptit u-PA được sửa đổi hoặc dược phẩm chứa các polypeptit u-PA đã được sửa đổi có thể được sử dụng trước thời điểm cấy ghép miếng ghép cùng loài hoặc tại thời điểm cấy ghép với việc sử dụng tiếp tục theo kiểu mãn tính và/hoặc có thể được sử dụng trong một đợt thải ghép trong sự kiện một tập này xảy ra.

Dược phẩm có thể được bào chế để dùng khu trú hoặc tại chỗ, như dùng ngoài da (thẩm thấu qua da) và niêm mạc, như trong mắt, dưới dạng gel, kem và nước thơm và để bôi vào mắt hoặc trong nội khí quản hoặc dùng trong tủy sống. Dung dịch này, cụ

thể là dung dịch dùng trong nhãn khoa, có thể được bào chế dưới dạng dung dịch đẳng trương 0,01% - 10% và độ pH khoảng 5-7 với muối thích hợp. Hợp chất có thể được bào chế dưới dạng khí dung để dùng tại chỗ, như bằng cách hít (ví dụ, xem patent Mỹ số 4,044,126, 4,414,209 và 4,364,923, mô tả khí dung để vận chuyển steroit hữu ích cho việc điều trị bệnh viêm, cụ thể là bệnh hen suyễn).

Nồng độ của hợp chất hoạt tính trong chế phẩm thuốc phụ thuộc vào tốc độ hấp thụ, bất hoạt và bài tiết của hợp chất hoạt tính, lịch trình liều lượng và lượng sử dụng cũng như các yếu tố khác được biết đến với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Như được mô tả thêm trong bản mô tả này, liều lượng có thể được xác định theo kinh nghiệm bằng cách sử dụng so sánh các đặc tính và hoạt tính (ví dụ, sự phân cắt của một hoặc nhiều protein bổ thể) của polypeptit u-PA biến đổi so với polypeptit u-PA kiểu dại và/hoặc không được biến đổi.

Chế phẩm, nếu muốn, có thể được trình bày trong một gói, trong một bộ dụng cụ hoặc thiết bị phân phối, có thể chứa một hoặc nhiều dạng bào chế đơn vị chứa thành phần hoạt tính. Trong một số ví dụ, chế phẩm có thể được phủ trên một thiết bị, như trên một ống hoặc bộ lọc, ví dụ, một máy phân nhánh. Ví dụ, gói chứa lá kim loại hoặc nhựa, như một gói vỉ. Thiết bị đóng gói hoặc phân phối có thể kèm theo hướng dẫn sử dụng. Các chế phẩm chứa hoạt chất có thể được đóng gói dưới dạng các sản phẩm sản xuất chứa vật liệu đóng gói, tác nhân được đề xuất trong bản mô tả này và nhãn cho biết tình trạng rối loạn mà chất được đề xuất.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm chứa phân tử axit nucleic, bao gồm vectơ biểu hiện, mã hóa polypeptit u-PA. Theo một số phương án, thành phần của phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA và vectơ biểu hiện mã hóa chúng phù hợp cho liệu pháp gen. Thay vì cung cấp protein, axit nucleic có thể được sử dụng *in vivo*, như hệ thống hoặc theo đường khác, hoặc ex vivo, như bằng cách loại bỏ các tế bào, bao gồm cả tế bào lympho, đưa axit nucleic trong đó vào và tái đưa vào vật chủ hoặc người nhận tương thích.

2. Sử dụng các axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA biến đổi (liệu pháp gen)

Polypeptit u-PA biến đổi có thể được đưa đến tế bào và mô bằng cách biểu hiện phân tử axit nucleic. Polypeptit u-PA biến đổi có thể được dùng dưới dạng phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA đã biến đổi, bao gồm kỹ thuật *ex vivo* và biểu hiện *in*

vivo trực tiếp. Axit nucleic có thể được vận chuyển đến tế bào và mô bằng phương pháp bất kỳ được biết đến với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Axit nucleic phân lập có thể được kết hợp vào vectơ để thao tác thêm. Phương pháp dùng polypeptit u-PA bằng cách biểu hiện mã hóa phân tử axit nucleic bao gồm dùng vectơ tái tổ hợp. Vectơ có thể được thiết kế để duy trì theo từng giai đoạn, như bằng cách bao gồm nguồn gốc sao chép hoặc có thể được thiết kế để tích hợp vào nhiễm sắc thể trong tế bào.

Polypeptit u-PA cũng có thể được sử dụng ở trị liệu biểu hiện gen *ex vivo* sử dụng vectơ. Vectơ trị liệu gen thích hợp và phương pháp vận chuyển được biết đến với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, các tế bào có thể được thiết kế để biểu hiện một polypeptit u-PA đã sửa đổi, như bằng cách tích hợp polypeptit u-PA mã hóa axit nucleic vào một vị trí bộ gen, liên kết hoạt động với các trình tự điều hòa hoặc sao cho nó được liên kết hoạt động với các trình tự điều hòa một vị trí bộ gen. Những tế bào này sau đó có thể được sử dụng cục bộ hoặc hệ thống cho một đối tượng, như bệnh nhân cần điều trị. Các vectơ mẫu cho liệu pháp gen *in vivo* và ex vivo bao gồm vectơ virut và vectơ không phải virut, như liposome hoặc nhiễm sắc thể nhân tạo.

Vectơ virut bao gồm, ví dụ, adenovirus, virut herpes, virut liên quan đến adeno (AAV), retrovirus, như virut đậu lăng, EBV, SV40, vectơ cytomegalovirus, vectơ virut vaccin và các loại khác được thiết kế cho liệu pháp gen có thể được sử dụng. Các vectơ có thể là những vectơ vẫn còn ở từng đoạn hoặc có thể tích hợp vào nhiễm sắc thể của đối tượng được điều trị. Polypeptit u-PA đã được sửa đổi có thể được mã hóa trong một vectơ virut, như AAV, được sử dụng cho đối tượng cần điều trị.

Vectơ virút thích hợp cho liệu pháp gen bao gồm adenovirut, virút liên quan đến adeno, retrovirut, lentivirut, và các virút khác đã nêu trên. Ví dụ, công nghệ biểu hiện adenovirut nổi tiếng trong lĩnh vực kỹ thuật và phương pháp sản xuất và dùng adenovirut cũng được biết đến. Kiểu huyết thanh adenovirut có sẵn, ví dụ, từ bộ sưu tập văn hóa kiểu Mỹ (ATCC®, Rockville, MD). Adenovirut có thể được sử dụng *ex vivo*, ví dụ, tế bào được phân lập từ bệnh nhân cần điều trị và được chuyển nạp bằng vectơ adenovirut biểu hiện polypeptit u-PA đã biến đổi. Sau thời gian nuôi cấy thích hợp, tế bào được chuyển nạp được dùng cho đối tượng, khu trú và/hoặc hệ thống. Ngoài ra, hạt adenovirut biểu hiện polypeptit u-PA được phân lập và bào chế trong chất mang dược dụng để cung cấp lượng hiệu quả điều trị nhằm ngăn ngừa, điều trị hoặc cải thiện bệnh hoặc tình trạng bệnh của đối tượng. Theo một phương án, bệnh được điều trị là do hoạt hóa bổ thể gây

ra. Thông thường, hạt adenovirut được phân phối với liều lượng nằm trong khoảng từ 1 hạt đến 10^{14} hạt trên kilogam trọng lượng đối tượng, thường là từ 10^6 hoặc 10^8 hạt đến 10^{12} hạt với mỗi kilogam trọng lượng đối tượng.

Phân tử axit nucleic có thể được đưa vào nhiễm sắc thể nhân tạo và các vectơ không phải virut khác. Nhiễm sắc thể nhân tạo, như ACES (xem, Lindenbaum *et al. Nucleic Acids Res.* (2004) 32(21):e172) có thể được thiết kế để mã hóa và biểu hiện polypeptit u-PA. Tóm lại, nhiễm sắc thể nhân tạo (MAC) của động vật có vú cung cấp một phương tiện để đưa một lượng lớn thông tin di truyền vào tế bào ở dạng sao chép tự động, không tích hợp. Duy nhất trong số các MAC, Hệ thống biểu hiện nhiễm sắc thể nhân tạo dựa trên ADN của vệ tinh động vật có vú (ACES) có thể được tạo ra tái tạo de novo trong các dòng tế bào của các loài khác nhau và dễ dàng được tinh chế khỏi nhiễm sắc thể của tế bào chủ. Sau đó, các ACE của động vật có vú đã được tinh sạch có thể được đưa lại vào nhiều dòng tế bào nhận khác nhau, nơi chúng đã được duy trì ổn định trong thời gian dài trong điều kiện không có áp lực chọn lọc bằng Hệ thống ACE. Sử dụng cách tiếp cận này, việc tải một hoặc hai mục tiêu gen cụ thể đã đạt được trong các tế bào LMTK (-) và CHO.

Phương pháp khác để giới thiệu các axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA biến đổi là kỹ thuật thay thế gen hai bước ở nấm men, bắt đầu với bộ gen adenovirus hoàn chỉnh (Ad2; Ketner *et al.* (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 6186-6190) được nhân dòng trong một nhiễm sắc thể nhân tạo men (YAC) và một plasmid chứa trình tự adenovirus để nhắm mục tiêu vào một vùng cụ thể trong bản sao YAC, một băng biểu hiện cho gen quan tâm và một dấu hiệu có thể lựa chọn tích cực và âm tính. YAC được quan tâm đặc biệt vì chúng cho phép kết hợp các gen lớn hơn. Cách tiếp cận này có thể được sử dụng để xây dựng các vectơ dựa trên adenovirus mang axit nucleic mã hóa bất kỳ polypeptit u-PA biến đổi nào được mô tả để chuyển gen sang tế bào động vật có vú hoặc toàn bộ động vật.

Axit nucleic có thể được bao nang trong vật truyền, như liposom, hoặc được đưa vào tế bào, như tế bào vi khuẩn, đặc biệt là vi khuẩn giảm độc lực hoặc được đưa vào vectơ virut. Ví dụ, khi liposom được sử dụng, protein liên kết với protein màng bề mặt tế bào liên quan đến quá trình nội bào có thể được sử dụng để nhắm đích và/hoặc để tạo điều kiện hấp thu, ví dụ, protein capsit hoặc mảnh của chúng có tính chất dinh dưỡng

đối với loại tế bào cụ thể, kháng thể đối với protein trải qua quá trình nội hóa trong chu trình, và protein nhắm đích nội bào và tăng cường thời gian bán rã nội bào.

Theo một số phương án, mong muốn đề xuất nguồn axit nucleic với chất nhắm mục tiêu tế bào, như kháng thể đặc hiệu cho protein màng bề mặt tế bào hoặc tế bào đích, hoặc phối tử cho thụ thể trên tế bào đích. Polynucleotit và vectơ biểu hiện được đề xuất trong bản mô tả này có thể được tạo ra bằng bất kỳ phương pháp thích hợp nào. Cung cấp thêm là các vectơ axit nucleic chứa các phân tử axit nucleic như đã mô tả ở trên. Cung cấp thêm là các vectơ axit nucleic chứa các phân tử axit nucleic như mô tả ở trên và các tế bào chứa các vectơ này.

Đối với phương pháp ex vivo và *in vivo*, các phân tử axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA được đưa vào các tế bào từ một nhà tài trợ thích hợp hoặc đối tượng được điều trị. Các tế bào mà axit nucleic có thể được đưa vào cho mục đích trị liệu bao gồm, ví dụ, bất kỳ loại tế bào mong muốn, sẵn có nào thích hợp cho bệnh hoặc tình trạng cần điều trị, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tế bào biểu mô, tế bào nội mô, tế bào sừng, nguyên bào sợi, tế bào cơ, tế bào gan; tế bào máu như tế bào lympho T, tế bào lympho B, bạch cầu đơn nhân, đại thực bào, bạch cầu trung tính, bạch cầu ái toan, tế bào megakaryocytes, bạch cầu hạt; các tế bào gốc hoặc tế bào tiền thân khác nhau, bao gồm tế bào gốc hoặc tế bào tiền thân hemato-poietic, ví dụ, như tế bào gốc thu được từ tủy xương, máu dây rốn, máu ngoại vi, gan thai nhi và các nguồn khác của chúng.

Đối với điều trị *ex vivo*, tế bào từ người cho tương thích với đối tượng được điều trị hoặc tế bào của đối tượng được điều trị bị loại bỏ, axit nucleic được đưa vào tế bào bị phân lập này và tế bào biến đổi sẽ được dùng cho đối tượng. Điều trị bằng cách dùng trực tiếp, như, được bao nang trong màng xốp, được cấy vào bệnh nhân (xem, ví dụ, Pat. Mỹ số 4,892,538 và 5,283,187). Kỹ thuật thích hợp để chuyển axit nucleic vào tế bào động vật có vú *in vitro* bao gồm việc sử dụng liposom và lipit cation (ví dụ, điện phân DOTMA, DOPE và DC-Chol), vi tiêm, dung hợp tế bào, DEAE-dextran và phương pháp kết tủa canxi photphat. Phương pháp phân phối ADN có thể được sử dụng để biểu hiện polypeptit u-PA in vivo. Phương pháp này bao gồm phân phối axit nucleic bằng liposom và phân phối ADN trần, bao gồm phân phối khu trú và toàn thân như sử dụng điện phân, siêu âm và phân phối canxi-photphat. Các kỹ thuật khác bao gồm vi tiêm, dung hợp tế bào, chuyển gen qua trung gian nhiễm sắc thể, chuyển gen qua trung gian vi tế bào và dung hợp nguyên bào hình cầu.

Biểu hiện *in vivo* của polypeptit u-PA biến đổi có thể được liên kết để biểu hiện phân tử bổ sung. Ví dụ, biểu hiện của polypeptit u-PA có thể được liên kết với biểu hiện của sản phẩm gây độc tế bào, như trong virut được xử lý di truyền hoặc được biểu hiện trong một virut gây độc tế bào. Những virut như vậy có thể được nhắm mục tiêu đến một loại tế bào cụ thể là mục tiêu cho hiệu quả điều trị. Polypeptit u-PA biểu hiện có thể được sử dụng để tăng cường độc tính tế bào của vi rút.

Biểu hiện *in vivo* của polypeptit u-PA có thể bao gồm liên kết hoạt động với polypeptit u-PA mã hóa phân tử axit nucleic với các trình tự điều hòa cụ thể như trình tự khởi động cụ thể dành cho tế bào hoặc mô cụ thể. Các polypeptit u-PA cũng có thể được biểu hiện từ các vectơ lây nhiễm và/hoặc sao chép cụ thể trong các loại tế bào và/hoặc mô đích. Các trình tự khởi động cảm ứng có thể được sử dụng để điều chỉnh biểu hiện polypeptit u-PA một cách chọn lọc.

Phân tử axit nucleic, dưới dạng axit nucleic trần hoặc trong vectơ, nhiễm sắc thể nhân tạo, liposome và các phương tiện khác có thể được sử dụng cho đối tượng bằng cách dùng toàn thân, tại chỗ, tại chỗ và các đường dùng khác. Khi hệ thống và in vivo, phân tử axit nucleic hoặc phương tiện chứa phân tử axit nucleic có thể được nhắm đích đến tế bào.

Việc sử dụng cũng có thể trực tiếp, như bằng cách sử dụng vectơ hoặc tế bào thường nhắm mục tiêu vào một tế bào hoặc mô. Ví dụ, tế bào khối u và tế bào tăng sinh có thể là tế bào đích để biểu hiện *in vivo* của polypeptit u-PA. Các tế bào được sử dụng để biểu hiện *in vivo* của polypeptit u-PA cũng bao gồm các tế bào tự thân đối với bệnh nhân. Các tế bào như vậy có thể được loại bỏ khỏi bệnh nhân, các axit nucleic để biểu hiện polypeptit u-PA được đưa vào, và sau đó được sử dụng cho bệnh nhân như bằng cách tiêm hoặc tiêm.

Dùng để điều trị AMD và các bệnh về mắt khác

Axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA biến đổi cung cấp có thể được dùng để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh liên quan đến việc hoạt hóa bổ thể trong căn nguyên của chúng, trong đó việc ức chế chúng có thể cải thiện triệu chứng của bệnh hoặc tình trạng bệnh hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh khác. Axit nucleic, như vectơ, như vectơ virut, được thiết kế để phân phối axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA biến đổi được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng cho đối tượng bằng con đường thích hợp bất

kỳ hoặc kết hợp các con đường khác nhau, tùy thuộc vào bệnh hoặc tình trạng bệnh. Việc phân phối axit nucleic có thể được thực hiện thông qua việc phân phối trực tiếp đến mắt (như phân phối qua mắt, tiêm dưới màng não, tiêm trong cơ thể (IVT), tiêm vào trong hoặc phân phối khu trú (ví dụ, thuốc nhỏ mắt) hoặc phân phối qua đường toàn thân, ví dụ, trong động mạch, nội nhãn, tĩnh mạch, bắp, dưới da, trong da và các đường dùng ngoài da khác.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể lựa chọn cách sử dụng bất kỳ có thể tương hợp với đối tượng và virut để sử dụng, và cũng dường như dẫn đến tiếp cận virút và xâm nhập vào loại tế bào đích hoặc mô, ví dụ, mắt, như tế bào biểu mô sắc tố võng mạc (RPE) và/hoặc tế bào thụ cảm ánh sáng. Đường dùng thuốc có thể được lựa chọn bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này theo bất kỳ yếu tố nào trong số các yếu tố khác nhau, bao gồm bản chất của bệnh, đặc tính của tế bào hoặc mô đích (ví dụ: loại tế bào), và loại virus cụ thể. quản lý. Việc sử dụng có thể được lựa chọn nơi các tế bào hoặc mô quan tâm được nhắm mục tiêu, như mắt, ví dụ, tế bào biểu mô sắc tố võng mạc (RPE) và/hoặc tế bào cảm thụ ánh sáng hoặc không gian dưới hậu môn.

Ví dụ, axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA biến đổi, như vectơ biểu hiện virut, có thể được phân phối đến tế bào đích được đặc trưng bởi bệnh, như bệnh ở mắt, như AMD. Ví dụ, chế phẩm chứa virut có thể được phân phối bằng cách tiêm dưới màng lưới, như tiêm dưới màng lưới đến biểu mô sắc tố võng mạc (RPE), tế bào thụ cảm ánh sáng hoặc các tế bào mắt khác (ví dụ, tế bào hạch võng mạc). Trong một số ví dụ, việc dùng virut dưới màng lưới, như virut bất kỳ chứa axit nucleic được mô tả trong bản mô tả này, yêu cầu bác sĩ có chuyên môn thực hiện phẫu thuật cắt dịch kính (tức là nơi tạo ra lỗ kim trên võng mạc (retinomy) và tiêm chất lỏng vào, như chất lỏng chứa virut, như virut bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này). Tiêm dưới màng lưới có thể được thực hiện thông qua con đường xuyên vỏ, qua đồng tử và sau đó đi qua thấu kính, dịch thủy tinh và võng mạc. Trong các ví dụ khác, tiêm dưới màng lưới có thể được thực hiện bằng cách đưa kim hoặc thiết bị dùng khác bất kỳ qua màng cứng, đi vào vùng pars plana hoặc rìa, mặc dù dịch kính giữa hoặc sau và ở phía đối diện của võng mạc, vào khoang dưới màng lưới. Trong các ví dụ khác, tiêm dưới màng lưới có thể được thực hiện bằng cách đưa kim hoặc thiết bị dùng khác bất kỳ qua màng cứng và qua màng mạch và màng Bruch, tránh võng mạc để đạt được phân phối đến RPE. Các đường dùng

thích hợp khác để dùng dưới màng lưới có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình hoặc bác sĩ hoặc bác sĩ phẫu thuật. Trong một số ví dụ, sự tạo thành mụn nước báo hiệu việc sử dụng thành công.

Trong các ví dụ khác, chế phẩm chứa axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA đã được sửa đổi để biểu hiện trong mắt có thể được cung cấp bằng cách tiêm trong mắt vào các tế bào mắt, như tiêm vào các tế bào dịch thủy tinh đích và các tế bào trong võng mạc bên trong. Trong một số ví dụ, việc tiêm thuốc trong thực vật được thực hiện bằng cách đưa kim tiêm hoặc bất kỳ dụng cụ tiêm truyền nào khác qua mặt phẳng phân tích cú pháp, mặc dù dịch thủy tinh ở giữa hoặc sau và sang phía đối diện của võng mạc. Sau khi tiêm vào cơ thể, chế phẩm chứa virut có thể được phân phối để lây nhiễm các tế bào hạch. Trong các ví dụ khác, chế phẩm chứa virut được phân phối bằng cách tiêm intravitreal nhắm vào các tế bào lớp nhân bên trong. Hiệu quả của việc phân phối phụ thuộc vào hiệu giá virus và kiểu huyết thanh. Trong một số ví dụ, việc điều trị bao gồm tiêm trực tiếp vào trong dạ dày kết hợp với thiết bị cấy ghép trong mắt (tức là thiết bị cấy ghép trong da sinh học và không thể tiêu hóa) để tăng nồng độ của chất được sử dụng cho mặt sau của mắt (Hwang et al. (2012) J Korean Med Sci 27:1580-85).

Trong các ví dụ khác, chế phẩm chứa axit nucleic mã hóa polypeptit u-PA biến đổi được tiêm qua tĩnh mạch mi đến tế bào mắt đích. Trong các ví dụ khác, virut được áp dụng ex vivo (ví dụ, được áp dụng cho tế bào võng mạc RPE đã được cắt bỏ hoặc tế bào võng mạc của thai nhi hoặc tế bào võng mạc) để cấy ghép vào mắt, như ghép võng mạc. Trong các ví dụ khác, một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, như bác sĩ có tay nghề cao có thể chọn đường thích hợp để sử dụng bất kỳ loại virut nào chứa axit nucleic được mô tả trong bản mô tả này. Nếu muốn, các đường dùng có thể được kết hợp.

Trong một ví dụ, virut được sử dụng khu trú, tại vị trí có các tế bào đích, ví dụ, tế bào bị bệnh, tức là trong mắt hoặc võng mạc. Dùng tại chỗ thường được sử dụng trong bệnh về mắt ở đoạn trước của mắt (Patel et al. World J Pharmacol (2013) 2:47-64).

Trong một ví dụ, virut được phân phối trong cơ thể có thể được dùng với cây kim mỏng (27 đến 30 G) qua pars plana bên trong thể thủy tinh. Người có hiểu biết trung bình sẽ xác định khoảng cách trục kim được đưa vào mắt (ví dụ, độ sâu của kim tiêm),

tốc độ đưa vào (ví dụ, áp lực tác dụng lên pít tông), góc định hướng của góc xiên và góc giữa trục và pars plana.

H. Sử dụng điều trị và phương pháp điều trị

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này nhắm đích protein bổ thể C3 và cho phép biến đổi bệnh và rối loạn qua trung gian bổ thể. Proteaza trị liệu, như polypeptit u-PA được cải tiến được đề xuất trong bản mô tả này, có nhiều lợi thế tiềm năng so với các phương pháp điều trị truyền thống. Đứng đầu trong số đó là khả năng vô hiệu hóa các mục tiêu bệnh theo cách xúc tác (tức là một đến nhiều phương pháp đo phân lớp). Do đó, proteaza có thể duy trì sự điều hòa hiệu quả ở nồng độ thấp hơn đáng kể so với nồng độ mục tiêu. Các lợi thế khác biệt bổ sung bao gồm (1) bất hoạt không thể đảo ngược; (2) liều lượng thấp; (3) giảm tần số dùng thuốc (4) kích thước phân tử nhỏ; (5) khả năng nhắm mục tiêu các sửa đổi sau phiên dịch; (6) khả năng trung hòa nồng độ mục tiêu cao; và (7) khả năng nhắm mục tiêu ra khỏi trang web đang hoạt động. Là một phương pháp điều trị, một proteaza vẫn phải thể hiện các đặc điểm sau: (1) tiếp cận mục tiêu phân tử (ngoại bào), và (2) có đủ độ đặc hiệu nghiêm ngặt đối với mục tiêu quan trọng đối với tình trạng bệnh. Các polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sử dụng trong điều trị các bệnh và rối loạn qua trung gian bổ thể.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu được vai trò của hệ thống bổ thể trong quy trình bệnh và nhận thức được nhiều loại bệnh này. Được đề xuất là thảo luận ngắn gọn về bệnh làm ví dụ và vai trò của protein bổ thể C3 trong căn nguyên và bệnh lý của chúng. Polypeptit u-PA biến đổi và phân tử axit nucleic được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị tình trạng bệnh bất kỳ liên quan đến việc hoạt hóa con đường bổ thể, cụ thể là tình trạng viêm bao gồm tình trạng viêm cấp tính, như sốc nhiễm trùng và tình trạng viêm mãn tính, như viêm khớp dạng thấp (RA). Tình trạng viêm và cấp tính có thể được biểu hiện như bệnh qua trung gian miễn dịch, ví dụ như bệnh tự miễn hoặc tổn thương mô do viêm qua trung gian phức hợp miễn dịch. Tình trạng viêm qua trung gian bổ thể cũng có thể được biểu hiện như bệnh thoái hóa thần kinh hoặc bệnh tim mạch có thành phần gây viêm. Phần này cung cấp sử dụng làm ví dụ và phương pháp dùng đối với polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này. Các liệu pháp được mô tả này là ví dụ và không giới hạn ứng dụng của polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này. Phương pháp này bao gồm,

nhưng không bị giới hạn ở, phương pháp điều trị tình trạng sinh lý và y tế được mô tả và liệt kê dưới đây. Phương pháp này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, phương pháp điều trị thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD), teo cơ địa (GA), tiểu huyết sắc tố kịch phát về đêm (PNH), chức năng ghép thận bị trì hoãn (DGF), nhiễm trùng huyết, viêm khớp dạng thấp (RA), viêm cầu thận tăng sinh màng (MPGN), luput ban đỏ, bệnh đa xơ cứng (MS), bệnh nhược cơ (MG), hen suyễn, bệnh viêm ruột, hội chứng suy hô hấp, tổn thương mô viêm cấp tính qua trung gian phức hợp miễn dịch (IC), suy đa cơ quan, bệnh Alzheimer (AD), chấn thương do thiếu máu cục bộ tái tưới máu gây ra bởi biến cố hoặc phương pháp điều trị như nhồi máu cơ tim (MI), đột quỵ, bắc cầu tim phổi (CPB) hoặc ghép động mạch vành, nong mạch hoặc chạy thận nhân tạo, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), xơ phổi vô căn (IPF) và/hoặc hội chứng Guillain Barre.

Điều trị bệnh và tình trạng bằng polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được thực hiện bằng bất kỳ đường dùng thích hợp nào bằng cách sử dụng các công thức phù hợp như được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tiêm dưới da, uống, tiêm trong da, trong, dưới màng não, quanh mắt và qua da. Nếu cần thiết, một liều lượng và thời gian cụ thể và quy trình điều trị có thể được xác định hoặc ngoại suy theo kinh nghiệm. Ví dụ, các liều lượng mẫu của polypeptit u-PA kiểu dại có thể được sử dụng làm điểm khởi đầu để xác định liều lượng thích hợp. Các polypeptit u-PA đã biến đổi có độ đặc hiệu và/hoặc độ chọn lọc cao hơn so với polypeptit u-PA kiểu dại có thể có hiệu quả với liều lượng và hoặc tần số giảm. Mức độ liều lượng có thể được xác định dựa trên nhiều yếu tố, như trọng lượng cơ thể của cá nhân, sức khỏe chung, tuổi tác, hoạt động của hợp chất cụ thể được sử dụng, giới tính, chế độ ăn uống, thời gian dùng thuốc, tốc độ bài tiết, sự kết hợp thuốc, mức độ nghiêm trọng và diễn biến của bệnh, thái độ của bệnh nhân đối với bệnh và nhận định của bác sĩ điều trị. Số lượng thành phần hoạt tính có thể được kết hợp với các vật liệu mang để tạo ra dạng bào chế đơn sẽ khác nhau tùy thuộc vào vật chủ được xử lý và chế độ sử dụng cụ thể.

Sau khi cải thiện về tình trạng bệnh của bệnh nhân, có thể sử dụng liều duy trì của hợp chất hoặc chế phẩm, nếu cần; và liều lượng, dạng liều lượng, hoặc tần suất sử dụng, hoặc sự kết hợp của chúng có thể được biến đổi. Trong một số trường hợp, đối tượng có thể yêu cầu điều trị ngắt quãng trong thời gian dài khi có sự tái phát bất kỳ của triệu chứng bệnh.

1. Bệnh qua trung gian hoạt hóa bổ sung

Tầng bổ thể là một con dao hai lưỡi, giúp bảo vệ chống lại sự xâm nhập của vi khuẩn và vi rút bằng cách thúc đẩy quá trình thực bào và viêm nhiễm. Ngược lại, ngay cả khi bổ thể hoạt động bình thường, nó có thể góp phần vào sự phát triển của bệnh bằng cách thúc đẩy quá trình viêm tại chỗ và làm tổn thương các mô. Do đó, các tác động bệnh lý được thực hiện bởi chính các chất trung gian chịu trách nhiệm về vai trò bảo vệ của bổ thể. Ví dụ, peptide C5a anaphylatoxin và phản ứng hóa học thúc đẩy quá trình viêm bằng cách tuyển mộ và hoạt hóa bạch cầu trung tính, C3a có thể gây ra sự hoạt hóa bệnh lý của các tế bào thực bào khác, và phức hợp tấn công màng có thể giết chết hoặc làm tổn thương tế bào. Trong một ví dụ, như trong nhiều bệnh tự miễn, bổ thể tạo ra tổn thương mô vì nó được hoạt hóa trong những trường hợp không thích hợp, như bởi kháng thể đối với mô vật chủ. Trong các tình huống khác, bổ thể có thể được hoạt hóa bình thường, như nhiễm trùng huyết, nhưng vẫn góp phần vào sự tiến triển của bệnh, như trong hội chứng suy hô hấp. Về mặt bệnh lý, bổ thể có thể gây tổn thương đáng kể cho mạch máu (viêm mạch), màng đáy thận và tế bào biểu mô và nội mô kèm theo (viêm thận), bao hoạt dịch khớp (viêm khớp), và hồng cầu (tan máu) nếu nó không được kiểm soát đầy đủ.

Bổ thể có vai trò trong sinh bệnh học miễn dịch của một số rối loạn, bao gồm bệnh tự miễn dịch như viêm khớp dạng thấp (xem, ví dụ, Wang *et al.* (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92:8955-8959; Moxley *et al.* (1987) *Arthritis & Rheumatism* 30:1097-1104), luput ban đỏ (Wang *et al.* (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:8563-8568; and Buyon *et al.* (1992) *Arthritis Rheum.* 35:1028-1037) và viêm cầu thận cấp (Couser *et al.* (1995) *J Am Soc Nephrol.* 5:1888-1894). Các bệnh lý khác liên quan đến việc hoạt hóa hệ thống bổ thể bao gồm nhiễm trùng huyết (xem, ví dụ, Stove *et al.* (1996) *Clin Diag Lab Immunol* 3:175-183; Hack *et al.* (1989) *Am. J. Med.* 86:20-26), hội chứng suy hô hấp (xem, ví dụ, Zilow *et al.* (1990) *Clin. Exp. Immunol.* 79:151-157; and Stevens *et al.* (1986) *J. Clin. Invest.* 77:1812-1816), suy đa cơ quan (xem, ví dụ, Hecke *et al.* (1997) *Shock* 7:74; and Heideman *et al.* (1984) *J. Trauma* 24:1038-1043), chấn thương tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ như xảy ra trong bệnh tim mạch như đột quỵ hoặc nhồi máu cơ tim (Austen WG *et al.* (2003) *Int J Immunopathol Pharm* 16(1):1-8), thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (Bradley *et al. Eye* 25: 683-693 (2011); Gemenetzi *et al. Eye* 30: 1-14 (2016)) và chức năng ghép thận bị trì hoãn (Danobeitia *et al.* [abstract]. *Am J Transplant.*

2013; 13 (suppl 5); Yu *et al.* (2016) *Am J Transplant* 16(9):2589-2597; Castallano *et al.* (2010) *Am J Pathol* 176(4):1648-1659). Một số ví dụ làm ví dụ về bệnh qua trung gian bổ thể được mô tả dưới đây.

a. Viêm khớp dạng thấp

Viêm khớp dạng thấp (RA) là bệnh viêm mãn tính. Đây là một bệnh tự miễn, trong đó hệ thống miễn dịch tấn công các thành phần mô bình thường như thể chúng đang xâm nhập mầm bệnh. Tình trạng viêm liên quan đến viêm khớp dạng thấp chủ yếu tấn công các lớp lót của khớp. Các màng lót bên trong mạch máu, tim và phổi cũng có thể bị viêm. RA được đặc trưng bởi các tế bào B được hoạt hóa và các tế bào huyết tương có trong bao hoạt dịch bị viêm, và trong các nang và trung tâm mầm bệnh đã hình thành. Điều này dẫn đến sản xuất globulin miễn dịch cục bộ ở mức độ cao và lắng đọng các phức hợp miễn dịch, có thể bao gồm các yếu tố dạng thấp IgG và IgM, trong màng hoạt dịch và liên kết với sụn khớp, có thể đóng vai trò là chất khởi đầu của dòng bổ thể. Nồng độ cao của các thành phần bổ thể, như C3a, C5a và C5b-9 đã được tìm thấy trong các khớp dạng thấp bị viêm. Các thành phần bổ thể này có thể làm trầm trọng thêm tình trạng viêm liên quan đến RA bằng cách gây ra nhiều hoạt động tiền viêm, như thay đổi tính thấm thành mạch, hóa chất điều hòa bạch cầu, hoạt hóa và phân giải nhiều loại tế bào.

b. Nhiễm trùng huyết

Nhiễm trùng huyết là bệnh do nhiễm nghiêm trọng, như nhiễm do vi khuẩn, dẫn đến đáp ứng viêm toàn thân. Thành phần vách tế bào vi khuẩn, lipopolysaccarit, thường liên quan đến nhiễm trùng huyết, mặc dù các bệnh nhiễm do vi khuẩn, virút và nấm khác có thể kích thích triệu chứng nhiễm trùng. Sốc nhiễm trùng thường xảy ra nếu hệ thống miễn dịch tự nhiên của cơ thể không thể chống lại vi sinh vật xâm nhập, như hậu quả gây viêm của đáp ứng miễn dịch là gây tổn hại đến mô vật chủ. Giai đoạn đầu của nhiễm trùng huyết được đặc trưng bởi sự hoạt hóa bổ thể quá mức dẫn đến tăng sản xuất anaphylatoxin bổ thể, như C3a, C4a và C5a có tác dụng tăng tính thấm thành mạch, kích thích sản xuất superoxit từ bạch cầu trung tính và kích thích giải phóng histamin. Hoạt tính của C5a có thể góp phần vào đáp ứng miễn dịch hiệu quả đối với nhiễm do vi khuẩn, nhưng nếu không được kiểm soát, C5a cũng có thể gây tổn hại nghiêm trọng. Trong mô hình viêm do *E.coli* gây ra, sự phong bế C5a cải thiện kết quả của động vật bị nhiễm

trùng bằng cách giới hạn sự hoạt hóa bạch cầu trung tính qua trung gian C5a có thể dẫn đến chấn thương mô qua trung gian bạch cầu trung tính.

Việc tiếp tục suy giảm đáp ứng miễn dịch bẩm sinh đối với nhiễm trùng do vi khuẩn thường dẫn đến nhiễm trùng huyết mãn tính hoặc sốc nhiễm trùng, có thể đe dọa tính mạng. Trong giai đoạn muộn của nhiễm trùng huyết, hoạt động "ngủ yên" của bạch cầu trung tính, trái ngược với sự hiếu động xảy ra trong giai đoạn đầu, góp phần làm cho bệnh tiếp tục xảy ra. Ở giai đoạn muộn, các chức năng chính của bạch cầu trung tính bao gồm điều hòa hóa học, hoạt động bùng phát hô hấp và khả năng tiêu diệt vi khuẩn bị giảm sút. Bổ sung, và đặc biệt là C5a, cũng đóng một vai trò trong giai đoạn sau của nhiễm trùng huyết. Việc sản xuất quá nhiều C5a trong quá trình nhiễm trùng huyết có liên quan đến sự "vô hiệu hóa" của bạch cầu trung tính trong máu, một quá trình có liên quan đến sự điều hòa đi xuống do C5a của thụ thể của chính nó, C5aR, trên bạch cầu trung tính (Guo *et al.* (2003) *FASEB J* 13:1889). Mức độ giảm của C5aR trên bạch cầu trung tính tương quan với việc giảm khả năng liên kết C5a của bạch cầu trung tính trong máu, suy giảm phản ứng hóa học, mất sản xuất superoxide và suy giảm hoạt động diệt khuẩn. Tuy nhiên, nồng độ C5aR có thể bắt đầu "phục hồi" ở các giai đoạn sau của nhiễm trùng huyết và tương quan với trường hợp kết quả bệnh có lợi.

c. Bệnh đa xơ cứng

Bệnh đa xơ cứng (MS) và bệnh viêm não tủy dị ứng thực nghiệm trên mô hình động vật (EAE) là bệnh viêm nhiễm loại bỏ myelin của hệ thần kinh trung ương (CNS). Trong bệnh MS, tình trạng viêm mô thần kinh làm mất myelin, một chất béo đóng vai trò như một loại chất cách nhiệt bảo vệ các sợi thần kinh trong não và tủy sống. Sự khử men này để lại nhiều vùng mô sẹo (xơ cứng) dọc theo lớp bao phủ của các tế bào thần kinh, làm gián đoạn khả năng dẫn truyền xung điện đến và đi từ não của các dây thần kinh, tạo ra các triệu chứng khác nhau của MS. MS được trung gian bởi các tế bào lympho hoạt hóa, đại thực bào/microglia và hệ thống bổ thể. Hoạt hóa bổ sung có thể góp phần vào cơ chế bệnh sinh của những bệnh này thông qua vai trò kép của nó: khả năng của phức hợp đầu cuối được hoạt hóa C5b-9 để thúc đẩy quá trình khử men và khả năng của C5b-9 dưới dạng phân giải để bảo vệ tế bào oligodendrocytes (OLG) khỏi quá trình apoptosis.

d. Bệnh Alzheimer

Bệnh Alzheimer (AD) được đặc trưng bởi đám rối (sợi xoắn bắt cặp bất thường của protein tau, thường liên kết với các vi ống) và các mảng (lắng đọng ngoại bào được cấu tạo chủ yếu từ protein beta-amyloid) trong não. Mặc dù nguyên nhân chính xác của AD không hoàn toàn rõ ràng, nhưng chứng viêm thần kinh mãn tính ở các vùng bị ảnh hưởng của não AD cho thấy rằng các chất trung gian tiền viêm có thể đóng một vai trò nào đó. Các đám rối và mảng trong não AD được lắng đọng bằng các mảnh bổ thể đã được hoạt hóa, như C4d và C3d. Tương tự như vậy, các tế bào thần kinh loạn dưỡng trong não AD có thể được duy trì miễn dịch đối với MAC, cho thấy sự tấn công tự xúc tác của các tế bào thần kinh này và đồng thời mất đi các nơron thần kinh trong AD. Sự hoạt hóa bổ thể trong AD xảy ra theo cơ chế không phụ thuộc vào kháng thể do protein amyloid-beta tổng hợp gây ra. Hơn nữa, dòng tầng bổ thể có thể được hoạt hóa bởi các pentraxin, protein phản ứng C (CRP) và amyloid P (AP), tất cả đều được điều chỉnh trong AD (McGeer *et al*., (2002) *Trends Mol Med* 8:519). Sự hoạt hóa của bổ thể trong AD, được đánh dấu bằng sự gia tăng các chất trung gian bổ thể, không được kiểm soát đầy đủ bởi sự điều hòa bù đắp của các protein điều hòa bổ thể, như CD59. Do đó, hậu quả tiền viêm của việc hoạt hóa bổ thể làm trầm trọng thêm sự tiến triển của AD và có khả năng góp phần phá hủy nơ-ron.

e. Chấn thương tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ

Chấn thương do tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ là tổn thương kéo dài sau sự kiện thiếu máu cục bộ và sự phục hồi lưu lượng máu sau đó và là kết quả của đáp ứng viêm đối với tình trạng thiếu oxy. Tổn thương do tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ có thể cấp tính như trong quá trình phẫu thuật tim, như sau phẫu thuật tim hở hoặc nong mạch, hoặc mãn tính như suy tim sung huyết hoặc bệnh tim mạch tắc nghẽn. Ví dụ của chấn thương có thể gây ra chấn thương do tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ bao gồm nhồi máu cơ tim (MI) và đột quỵ. Sự khởi đầu của đáp ứng viêm có thể do sự gia tăng nồng độ oxy trong mô xảy ra khi tái tưới máu và sự tích tụ đồng thời của chất chuyển hóa có thể tạo ra gốc oxy tự do kích thích miễn dịch. Tổn thương do tái tưới máu do thiếu máu cục bộ có liên quan đến nhiều biến cố bao gồm mức độ nghiêm trọng của nhồi máu cơ tim, biến cố thiếu máu não, thiếu máu cục bộ đường ruột, và nhiều khía cạnh của phẫu thuật mạch máu, phẫu thuật tim, chấn thương và cấy ghép. Tổn thương được biểu hiện bằng biến cố viêm của hệ thống miễn dịch bẩm sinh, cụ thể là sự hoạt hóa của hệ thống bổ thể, để đáp ứng với mô mới bị thay đổi là không tự. Như vậy, chấn thương

do tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ được đặc trưng bởi phù nề mô do tăng tính thấm thành mạch, và thâm nhiễm tế bào viêm cấp tính do dòng bạch cầu đa nhân tăng sinh.

Hoạt hóa hệ thống bổ thể đóng vai trò trong biến cố viêm của chấn thương tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ. Chấn thương tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ dẫn đến thay đổi màng tế bào, ảnh hưởng đến lipid, carbohydrate hoặc protein của bề mặt bên ngoài để các biểu mô tiếp xúc này bị thay đổi và có thể hoạt động như một kháng nguyên mới (tự kháng nguyên được sửa đổi). IgM lưu hành nhận biết và liên kết các tân kháng nguyên để tạo thành phức hợp miễn dịch trên bề mặt tế bào bị thương. Các phức hợp kháng nguyên-kháng thể được hình thành là chất hoạt hóa cổ điển của con đường bổ thể cổ điển, mặc dù tất cả các con đường đều có thể liên quan đến một số cách gây ra các tác động trầm trọng thêm của tổn thương. Sự tham gia của con đường cổ điển của bổ thể đối với chấn thương do thiếu máu cục bộ tái tưới máu được chứng minh bằng những con chuột bị thiếu hụt di truyền C3 hoặc C4 thể hiện sự bảo vệ bình đẳng khỏi chấn thương cục bộ ở mô hình động vật và chân sau (Austen *et al.* (2003) *Int J Immunopath Pharm* 16:1). Ngược lại, trong mô hình thận bị chấn thương tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ, những con chuột thiếu C3-, C5- và C6 được bảo vệ trong khi những con chuột thiếu C4 thì không, cho thấy tầm quan trọng của con đường bổ sung thay thế (Guo *et al.* (2005) *Ann Rev Immunol* 23:821). Các chất trung gian được tạo ra khi hoạt hóa bổ thể bắt đầu phản ứng viêm hướng vào màng tế bào tại vị trí tổn thương cục bộ.

Cơ chế tác động chính của bổ thể trong chấn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ là dòng chảy và hoạt hóa của bạch cầu trung tính đến mô bị viêm bởi các thành phần bổ thể, như C5a. Sự hoạt hóa của bạch cầu trung tính dẫn đến tăng sản xuất các loại oxy phản ứng và giải phóng các enzym lysosome trong các cơ quan bị thương cục bộ, dẫn đến hậu quả là apoptosis, hoại tử và mất hoặc mất chức năng cơ quan. Việc tạo ra MAC đầu cuối, C5b-9, cũng góp phần vào tổn thương mô cục bộ trong chấn thương tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ.

f. Rối loạn mắt

Ở mắt bình thường, hệ thống bổ thể được hoạt hóa liên tục ở mức thấp; protein điều hòa bổ thể nội nhãn liên kết màng và tan được điều hòa chặt chẽ sự hoạt hóa bổ thể tự phát này. Hoạt hóa bổ thể ở mức độ thấp bảo vệ chống lại tác nhân gây bệnh mà không gây ra tổn thương bất kỳ cho mô tự thân và mất thị lực. Hệ thống bổ thể và protein

điều hòa bổ thể kiểm soát tình trạng viêm nội nhãn trong viêm màng bồ đào tự miễn và đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển của viêm giác mạc, thoái hóa điểm vàng do tuổi tác và bệnh võng mạc tiểu đường. Hệ thống bổ thể đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của bệnh võng mạc tiểu đường (xem, ví dụ, Ghosh *et al.* (2015) *Endocr Rev* 36:272–288) cũng như bệnh thần kinh tiểu đường và bệnh tim mạch do tiểu đường. Hoạt hóa bổ thể tự phát có thể gây tổn thương mô giác mạc sau khi nhiễm. Sự ức chế bổ thể là mục tiêu điều trị có liên quan trong điều trị các bệnh về mắt khác nhau (xem, ví dụ, Purushottam *et al.* (2007) *Mol Immunol.* 44:3901–3908).

Thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi (AMD)

Thoái hóa điểm vàng do tuổi tác là thuật ngữ lâm sàng mô tả nhiều loại bệnh được đặc trưng bởi sự mất dần thị lực trung tâm. AMD là nguyên nhân hàng đầu gây mất thị lực ở những người già ở nhiều nước công nghiệp phát triển (Jager *et al.* (2008) *N Engl J Med* 358:2606-2617). Mất thị lực xảy ra do sự thoái hóa tiến triển của điểm vàng, khu vực tại mặt sau của mắt bao gồm mật độ cao tế bào cảm thụ ánh sáng hình nón, được chuyên dụng cho thị lực cao, tầm nhìn trung tâm.

AMD có thể biểu hiện như AMD thể khô (không tạo mạch mới) và/hoặc AMD thể ướt. AMD thể khô là dạng phổ biến hơn (85-90% trường hợp) và nhẹ hơn, và được đặc trưng bởi các tổn thương nhỏ, hình tròn, màu vàng trắng (drusen) trong và dưới hoàng điểm. AMD thể khô tiến triển, hoặc teo địa lý, dẫn đến mỏng võng mạc do mất các tế bào thụ cảm ánh sáng PRE, suy giảm điểm vàng và cuối cùng là mù lòa. Mặc dù hiếm gặp hơn, nhưng tình trạng mất thị lực liên quan đến AMD thể ướt thường nghiêm trọng hơn so với AMD thể khô. AMD thể ướt bao gồm sự hình thành các mạch máu gây bệnh, được gọi là tân mạch máu màng đệm (CNV), trong đó các mạch máu bất thường phát triển bên dưới lớp biểu mô sắc tố võng mạc (RPE) của võng mạc. CNV xâm nhập vào võng mạc từ màng mạch bên dưới thông qua các vết gãy ở màng Bruch, cơ chất ngoại bào giữa màng mạch và biểu mô sắc tố võng mạc (RPE), hoặc sự vỡ của chúng có thể gây mất thị lực trong AMD (ví dụ: do xuất huyết dưới màng cứng và/hoặc sẹo).

Dấu hiệu lâm sàng ban đầu của AMD bao gồm làm dày màng Bruch và xuất hiện nút (Gass, J. D. (1972) *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* 70: 409-36), là chất lắng đọng lipoproteinaceous ngoại bào bao gồm protein kết tụ (ví dụ, albumin, apolipoprotein E (APOE)), thành phần của con đường bổ thể (ví dụ, yếu tố bổ thể H (CFH), C1q, C3, C5,

C5b, C6, C7, C8, C9 và vitronectin (Hageman *et al.*, (2001) *Prog. Retin. Eye. Res* 29:95-112; Hageman *et al.* (2005) *Proc. Nat. Acad. Sci.* 102: 7227-7232; Mullins *et al.* (2000) *FASEB H* 14:835-846; Anderson *et al.*, (2010) *Pro. Retin. Eye Res.* 29:95-112)), globulin miễn dịch và/hoặc amyloit-β (Crabb *et al.*, (2002) *Proc Natl Acad Sci* 99: 14682-14687; Johnson *et al.*, (2002) 99: 11830-11835)) và lipit và thành phần tế bào nằm giữa RPE và màng Bruch.

Tình trạng viêm trong AMD là trung gian của việc bãi bỏ quy định của con đường bổ thể thay thế. Thành phần bổ sung C3 và C5 là thành phần chính của drusen ở bệnh nhân AMD (Mullins *et al.*, (2000) *FASEB J* 14, 835-46; Johnson *et al.*, (2000) *Exp Eye Res* 70, 441-9; Anderson *et al.*, (2002) *Am J Ophthalmol* 134, 411-31; and Leitner *et al.*, (2001) *Exp Eye Res* 73, 887-96). Người ta giả thuyết rằng sự hình thành sinh học drusen liên quan đến các quá trình viêm mãn tính có thể gây hoạt hóa bổ thể và hình thành MAC, có thể làm ly giải các tế bào RPE hoặc rối loạn cân bằng nội môi sinh lý trong các tế bào RPE, dẫn đến tình trạng viêm đặc trưng của AMD (Johnson *et al.* (2001) *Exp Eye Res* 73, 887-896). Các protein bổ thể (ví dụ, C3d) cũng được phát hiện trong máu ở bệnh nhân AMD (Scholl *et al.*, (2008) *PLoS One* 3: e2593), cho thấy rằng tình trạng viêm do AMD gây ra có thể là toàn thân. Có bằng chứng di truyền về vai trò của bổ thể trong cơ chế bệnh sinh của AMD thể khô (Klein *et al. Science* 308(5720):385-389 (2005); Yates *et al., NEJM* 357:553-561 (2007)), compstatin (và các dẫn xuất compstatin APL-1 và APL-2) và POT-4 (Dược phẩm Potentia), các chất ức chế peptit nhỏ của C3, có thể làm chậm sự tiến triển của bệnh teo địa lý (Ricklin *et al.* (2008) *Adv. Exp. Med. Biol.* 632: 273-292) trong AMD, chỉ ra rằng C3 (tức là ức chế C3) có thể là đích khả thi để điều trị AMD.

g. Cấy ghép cơ quan và chức năng ghép trì hoãn (DGF)

Bổ thể đóng vai trò trong cơ chế bệnh sinh của tổn thương do thiếu máu cục bộ-tái tưới máu. Cơ chế của tổn thương tái tưới máu phụ thuộc vào việc tạo ra C5a và C5b-9, cả hai đều có độc tính trực tiếp trên ống thận góp phần gây hoại tử ống thận cấp tính và apxe, dẫn đến suy thận cấp sau thiếu máu cục bộ và xơ hóa mô. Đổi lại, việc tạo ra các thành phần của con đường tận cùng này phụ thuộc vào sự tổng hợp C3 trong thận và sự sẵn có của các thành phần bổ thể khác cần thiết cho sự hoạt hóa bổ thể. Mức độ biểu hiện của C3 trong cơ quan cho phụ thuộc nhiều vào thời gian thiếu máu cục bộ lạnh (Elham *et al.* (2010) *Curr Opin Organ Transplant.* 15:486–491).

Sự từ chối trong cấy ghép cơ quan rắn bị ảnh hưởng bởi đáp ứng viêm ban đầu và phản ứng dị ứng miễn dịch thích ứng sau đó, cả hai đều bị ảnh hưởng bởi các thành phần bổ thể khác nhau. Các protein bổ thể đóng một vai trò quan trọng trong tổn thương cơ quan sau khi cấy ghép trong quá trình tái tưới máu do thiếu máu cục bộ và điều chỉnh sự hoạt hóa của phản ứng miễn dịch thích ứng. Ức chế bổ thể hoặc điều chỉnh chức năng của các phân tử protein bổ thể có thể làm giảm tổn thương cơ quan cấy ghép và tăng tuổi thọ của cơ quan (xem, ví dụ, Elham *et al.* (2010) *Curr Opin Organ Transplant.* 15:486–491). Nhắm mục tiêu các thành phần bổ sung cho can thiệp điều trị có thể làm giảm tổn thương cơ quan tại thời điểm phục hồi cơ quan, chuyển và sau khi cấy ghép. Gương mẫu của các cơ quan đó là thận. Các polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sử dụng để giảm thiểu và/hoặc điều trị tổn thương cơ quan sau khi cấy ghép.

Chức năng ghép trì hoãn (DGF), như chức năng ghép thận bị trì hoãn, là tình trạng xảy ra ở một nhóm nhỏ bệnh nhân ghép thận trong đó cơ quan được cấy ghép không hoạt động bình thường ngay sau khi cấy ghép. Các phương pháp cấy ghép có thể có khác bao gồm, nhưng không giới hạn ở tim, phổi, mô mạch, mắt, giác mạc, dịch thủy tinh, da, tủy xương, cơ, mô liên kết, mô tiêu hóa, mô thần kinh, xương, tế bào gốc, đảo nhỏ, sụn, tế bào gan, và các tế bào tạo máu. DGF thận được đặc trưng bởi sự hoại tử cấp tính của bao thận và được xác định về mặt lâm sàng là sự cần thiết phải lọc máu ngay sau khi cấy ghép. Tổn thương thận cấp tính trong quá trình cấy ghép thường biểu hiện như DGF. Bệnh lý cơ bản của DGF rất phức tạp với sự đóng góp của các yếu tố có nguồn gốc từ người hiến tặng như tuổi và thời gian thiếu máu cục bộ của người hiến tặng, và các yếu tố của người nhận như chấn thương tái tưới máu, đáp ứng miễn dịch và điều trị bằng thuốc ức chế miễn dịch.

Thành phần của tầng bổ thể và hoạt hóa bổ thể đóng vai trò quan trọng như là chất trung gian của thải ghép và tổn thương do thiếu máu cục bộ tái tưới máu dẫn đến DGF. Nghiên cứu trên động vật đã xác định vai trò quan trọng của bổ thể trong tổn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ. Ví dụ, Eculizumab, kháng thể đơn dòng được làm giống như của người hướng chống lại C5, phong bế sự hoạt hóa bổ thể và được thể hiện là có thể ngăn chặn chức năng ghép bị trì hoãn ở nhóm nhỏ bệnh nhân ghép thận có nguy cơ cao (ví dụ xem bản tóm tắt của trung tâm nghiên cứu và trí tuệ quét horizon, tháng 9 năm 2016; Johnson *et al.* (2015) *Curr Opin Organ Transplant* 20(6):643-651;

Yu *et al.* (2016) *Am J Transplant* 16(9):2589-2597). Sự lắng đọng C4d dạng hạt có liên quan đến DGF ở nơi nhận miếng ghép cùng loài thận của người (Kikić *et al.* (2014) *Transpl Int* 27(3):312-321). Tăng sản xuất C3 có liên quan đến việc thải ghép thận (Pratt *et al.* (2002) *Nat Med* 8(6):582-587; Damman *et al.* (2011) *Nephrol Dial Transplant* 26(7):2345-2354). Do đó, polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này, có thể được sử dụng như liệu pháp để ngăn ngừa hoặc cải thiện hoặc loại bỏ thải ghép và DGF.

2. Công dụng trị liệu

a. Bệnh viêm qua trung gian miễn dịch

Polypeptit u-PA biến đổi được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị bệnh viêm. Bệnh viêm mà có thể được điều trị bằng proteaza bao gồm bệnh viêm cấp tính và mạn tính. Bệnh viêm làm ví dụ bao gồm bệnh hệ thống thần kinh trung ương (CNS), bệnh tự miễn dịch, tình trạng tăng đáp ứng đường thở như hen suyễn, viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm ruột và tổn thương mô viêm cấp tính do phức hợp miễn dịch (IC) điều trị.

Bệnh viêm cơ não tự miễn dịch thực nghiệm (EAE) có thể dùng làm mô hình cho bệnh đa xơ cứng (MS) (Piddlesden *et al.*, (1994) *J Immunol* 152:5477). EAE có thể được tạo ra ở một số loài nhạy cảm về mặt di truyền bằng cách tạo miễn dịch với myelin và các thành phần myelin như protein cơ bản myelin, protein proteolipid và myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG). Ví dụ, EAE do MOG gây ra tóm tắt các đặc điểm cơ bản của MS ở người bao gồm quá trình bệnh lâm sàng mãn tính, tái phát, bộ ba bệnh lý về viêm, viêm thần kinh đệm phản ứng và sự hình thành các mảng lớn khử men hợp lưu. Các polypeptit u-PA đã biến đổi có thể được đánh giá trong các mô hình động vật EAE. Các polypeptit u-PA biến đổi được sử dụng, như bằng cách tiêm vào màng bụng hàng ngày, và quá trình và sự tiến triển của các triệu chứng được theo dõi so với động vật đối chứng. Mức độ của các thành phần bổ thể viêm có thể làm trầm trọng thêm bệnh cũng có thể được đo bằng cách xét nghiệm hoạt tính của bổ thể huyết thanh trong xét nghiệm tán huyết và bằng cách xét nghiệm sự lắng đọng của các thành phần bổ thể, ví dụ như C1, C3 và C9.

Hoạt hóa bổ sung điều hòa tình trạng viêm trong bệnh như viêm khớp dạng thấp (RA) (Wang *et al.*, (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92:8955). Polypeptit u-PA biến

đối có thể được sử dụng để điều trị RA. Ví dụ, polypeptit u-PA có thể được tiêm khu trú hoặc toàn thân. Polypeptit u-PA biến đổi có thể được định lượng hàng ngày hoặc hàng tuần. Polypeptit u-PA được PEGyl hóa có thể được sử dụng để giảm khả năng sinh miễn dịch. Trong một ví dụ, viêm khớp do collagen loại II (CIA) có thể gây ra ở chuột như mô hình của bệnh khớp viêm tự miễn dịch có mô học tương tự như RA, đặc trưng bởi viêm màng hoạt dịch, tạo thành dịch rỉ viêm khớp và xói mòn sụn và xương. Để tạo ra CIA, collagen loại II của bò (B-CII) khi có mặt tá dược Freund hoàn chỉnh có thể được tiêm vào da ở gốc đuôi. Sau 21 ngày, chuột có thể được tái chủng ngừa bằng cách sử dụng quy trình tương đồng. Để kiểm tra tác dụng của polypeptit u-PA, 3 tuần sau thử thách đầu tiên với B-CII, polypeptit u-PA hoặc đối chứng có thể được sử dụng trong phúc mạc hai lần mỗi tuần trong 3 tuần. Chuột có thể bị hy sinh sau 7 tuần kể từ lần chủng ngừa ban đầu để phân tích mô học. Để đánh giá hiệu quả điều trị của polypeptit u-PA đối với bệnh đã xác định, polypeptit u-PA có thể được dùng hàng ngày trong tổng số 10 ngày sau khi bắt đầu xuất hiện viêm khớp lâm sàng ở một hoặc nhiều chi. Mức độ sưng tấy ở khớp bị ảnh hưởng ban đầu có thể được theo dõi bằng cách đo độ dày bàn chân bằng thước cặp. Trong cả hai mô hình, huyết thanh có thể được lấy từ chuột để xét nghiệm tán huyết và đo lường các dấu hiệu hoạt hóa bổ thể, như C5a và C5b-9. Trong ví dụ khác, mô hình linh trưởng có sẵn cho phương pháp điều trị RA. Đáp ứng của khớp mềm và sưng có thể được theo dõi ở đối tượng được điều trị bằng polypeptit u-PA và đối chứng để đánh giá điều trị polypeptit u-PA.

Polypeptit u-PA biến đổi có thể được sử dụng để điều trị chấn thương mô viêm cấp tính qua trung gian phức hợp miễn dịch (IC). Chấn thương qua trung gian IC là do đáp ứng viêm cục bộ chống lại sự lắng đọng vi mạch trong mô. Đáp ứng viêm tiếp theo được đặc trưng bởi phù nề, tăng bạch cầu trung tính, xuất huyết, và cuối cùng là hoại tử mô. Tổn thương mô qua trung gian vi mạch có thể được nghiên cứu trong phản ứng Arthus *in vivo* (RPA). Nói tóm lại, trong phản ứng RPA, lượng kháng thể dư thừa (như albumin kháng IgG trứng gà của thỏ) được tiêm vào da của động vật, như chuột cống hoặc chuột lang, mà trước đó được truyền vào tĩnh mạch với loài tương ứng. kháng nguyên (tức là albumin trứng gà) (Szalai *et al.*, (2000) *J Immunol* 164:463). Ngay trước khi bắt đầu phản ứng RPA, có thể dùng polypeptit u-PA hoặc chất kiểm soát bolus cùng lúc với kháng nguyên tương ứng bằng cách tiêm tĩnh mạch qua tĩnh mạch đùi bên phải. Ngoài ra, polypeptit u-PA có thể được sử dụng trong giờ đầu tiên của phản ứng RPA,

bắt đầu ngay sau khi tiêm kháng nguyên và ngay trước khi tiêm kháng thể qua da. Có thể đánh giá tác động của polypeptit u-PA đối với việc tạo ra tổn thương mô qua trung gian vi mạch phụ thuộc vào bổ thể sau khi bắt đầu thực hiện RPA bằng cách lấy máu để xác định hoạt tính tán huyết trong huyết thanh và bằng cách thu hoạch vùng da bị nhiễm bệnh cho định lượng kích thước tổn thương.

Polypeptit u-PA trị liệu, như các polypeptit được mô tả trong bản mô tả này, có thể được sử dụng để điều trị nhiễm trùng huyết và nhiễm trùng huyết nặng có thể dẫn đến sốc gây chết người. Mô hình sốc gây chết qua trung gian bổ thể có thể được sử dụng để kiểm tra tác dụng của polypeptit u-PA như một tác nhân điều trị. Trong một ví dụ như vậy, chuột có thể được mồi một lượng nhỏ lipopolysaccharide (LPS), sau đó là sử dụng kháng thể đơn dòng chống lại chất ức chế màng của bổ thể (chống Crry) (Mizuno *et al.*, (2002) *Int Arch Allergy Immunol* 127:55-62). Có thể đánh giá một polypeptit u-PA hoặc kiểm soát bất kỳ lúc nào trong quá trình bắt đầu sốc gây chết người, như trước khi mồi LPS, sau khi mồi LPS, hoặc sau khi dùng thuốc chống Crry và việc cứu chuột khỏi sốc chết có thể được đánh giá.

b. Bệnh thoái hóa thần kinh

Hoạt hóa bổ thể làm trầm trọng thêm tiến triển của bệnh Alzheimer (AD) và góp phần làm mất noron trong não AD. Polypeptit u-PA biến đổi được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị AD. Các mô hình chuột mô phỏng một số đặc điểm bệnh lý thần kinh và hành vi của AD có thể được sử dụng để đánh giá tác dụng điều trị của u-PA polypeptit. Các ví dụ về mô hình chuột chuyển gen bao gồm đưa protein tiền thân amyloid của người (APP) hoặc protein presenilin 1 (PS1) có đột biến gây bệnh vào chuột dưới sự kiểm soát của một promoter tích cực. Những con chuột này phát triển các đặc điểm của AD bao gồm sự gia tăng các mảng beta-amyloid và các tế bào thần kinh loạn dưỡng. Những con chuột chuyển gen kép cho các protein đột biến APP và PS1 phát triển số lượng lớn hơn các mảng beta-amyloid dạng sợi và cho thấy các yếu tố bổ thể và đệm hoạt hóa liên quan đến mảng bám. Các polypeptit u-PA có thể được sử dụng, như bằng cách tiêm vào màng bụng hoặc tiêm tĩnh mạch hàng ngày, và quá trình và sự tiến triển của các triệu chứng được theo dõi so với động vật đối chứng.

c. Bệnh tim mạch

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị bệnh tim mạch. Polypeptit u-PA có thể được sử dụng trong điều trị các bệnh tim mạch bao gồm chấn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ do đột quỵ, nhồi máu cơ tim, bắc cầu tim phổi, ghép nối động mạch vành, nong mạch hoặc chạy thận nhân tạo. Các polypeptit u-PA cũng có thể được sử dụng trong điều trị phản ứng viêm liên quan đến việc bắc cầu tim phổi có thể góp phần gây tổn thương mô. Nói chung, một polypeptit u-PA có thể được sử dụng đồng thời với hoặc sau một đợt điều trị hoặc sự kiện gây ra tổn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ qua trung gian bổ thể. Trong một ví dụ, polypeptit u-PA có thể được sử dụng cho đối tượng trước khi điều trị đối tượng bằng sự kiện gây tổn thương do thiếu máu cục bộ qua trung gian bổ thể, ví dụ như ghép nối động mạch vành của nong mạch.

Tác dụng của polypeptit u-PA với việc điều trị chấn thương tái đẩy máu do thiếu máu cục bộ có thể được đánh giá trên các mô hình động vật của chấn thương. Trong một mô hình như vậy, thiếu máu cục bộ cơ tim được gây ra ở những con thỏ được rạch trước ở màng ngoài tim bằng cách đặt một đường khâu lụa 3-0 xung quanh động mạch vành trước đi xuống bên trái (LAD) cách gốc 5-8 mm và thắt chặt dây nối. để bình trở nên tắc hoàn toàn (Buerke *et al.*, (2001) *J Immunol* 167:5375). Một polypeptit u-PA, như polypeptit u-PA đã sửa đổi, hoặc phương tiện kiểm soát như nước muối, có thể được tiêm tĩnh mạch với liều lượng tăng dần dưới dạng liều bolus 55 phút sau khi tắc mạch vành (tức là 5 phút trước khi tái tưới máu). Năm phút sau (tức là sau tổng cộng 60 phút thiếu máu cục bộ), dây nối LAD có thể được tháo ra và cơ tim thiếu máu cục bộ có thể được tái tưới máu trong 3 giờ. Vào cuối giai đoạn tái tưới máu, các sợi nối xung quanh LAD được thắt chặt. Tác dụng của polypeptit u-PA đối với tổn thương do thiếu máu cục bộ có thể được phân tích bằng cách đánh giá tác động lên hoại tử cơ tim, nồng độ creatine kinase trong huyết tương và các dấu hiệu hoạt hóa bạch cầu trung tính, như hoạt động myeloperoxidase và giải phóng gốc superoxide.

Trong mô hình khác về chấn thương cơ tim qua trung gian bổ thể duy trì khi truyền dịch tim chuột phân lập với dung dịch đệm Krebs-Henseleit chứa 6% huyết tương của người, điều trị bằng polypeptit u-PA biến đổi có thể được sử dụng để hạn chế tổn thương mô cho tim. Trong ví dụ này, dung dịch đệm được sử dụng để tưới máu cho tim có thể được bổ sung với các liều lượng khác nhau của polypeptit u-PA đã biến đổi. Tim

được tưới máu có thể được thử nghiệm để tìm sự lắng đọng của C3 và C5b-9 ở người, áp lực đẩy máu động mạch vành, huyết áp cuối tâm trương và nhịp tim.

Polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sử dụng làm phương pháp điều trị trước hoặc sau ghép nối tim phổi (CPB) hoặc ghép nối động mạch vành để ức chế phản ứng miễn dịch viêm thường xảy ra sau quá trình bắc cầu và điều đó có thể góp phần gây tổn thương mô. Tuần hoàn *in vitro* của máu toàn phần trong một mạch vòng ngoài cơ thể có thể được sử dụng để kích thích sự thay đổi tiểu cầu và bạch cầu và hoạt hóa bổ thể do CPB gây ra (Rinder *et al.* (1995) *J. Clin. Invest.* 96:1564). Trong một mô hình như vậy, việc bổ sung polypeptit u-PA hoặc đệm kiểm soát, với các liều lượng khác nhau, có thể được thêm vào gói truyền đã chứa máu từ người cho khỏe mạnh và heparin của lợn, ngay trước khi bổ sung máu vào mạch ngoài cơ thể. Mẫu máu có thể được lấy ở 5, 15, 30, 45, 60, 75 và 90 phút sau khi tuần hoàn và xét nghiệm cho các nghiên cứu bổ thể, như xét nghiệm tán huyết và/hoặc xét nghiệm hoạt hóa bổ thể để đo C5a, C3a và/hoặc sC5b-9. Mẫu máu được xử lý sơ bộ được lấy trước khi bổ sung vào mạch ngoài cơ thể có thể được sử dụng như một đối chứng. Đo tế bào dòng chảy của mẫu máu có thể được thực hiện để xác định mức độ của các phân tử kết dính trên quần thể bạch cầu lưu hành (tức là bạch cầu trung tính) trong máu, ví dụ như mức CD11b và P-selectin.

d. Thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi tác (AMD)

Polypeptit u-PA biến đổi được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị bệnh thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD). Thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi (AMD) có thể được điều trị bằng proteaza bao gồm AMD ướt, AMD khô và teo địa lý.

Nhiều mẫu động vật của AMD có sẵn mô phỏng nhiều đặc điểm của chứng rối loạn ở người (Pennesi *et al.* (2012) *Mol. Aspects Med.* 33(4):487-509)). Đột biến trong gen theo con đường bổ thể được chứng minh là làm tăng hoặc giảm tính nhạy cảm với AMD (Edwards *et al.* (2005) *Science* 308(5720):421-424; Hageman *et al.* (2005) *Proc. Nat. Acad. Sci* 102(20): 7227-7232; Klein *et al.* (2005) *Science* 308(5720):385-389). Ví dụ, trong yếu tố bổ thể H (CFH), thường tương tác với C3b, đa hình nucleotit đơn Y402H ngăn cản liên kết của C3b với yếu tố B, dẫn đến ức chế sự tạo thành C3. Y402H có liên quan đến việc tăng nguy cơ mắc AMD ở người và đột biến này trước đây được xác định

ở 43-59% bệnh nhân AMD (Haines *et al.* (2005) *Science* 308(5720): 419-421; Thakkinstian *et. al.* (2006) *Hum. Mol. Genet.* 15(18): 2784-2790; Zareparsi *et al.* (2005) *Am. J. Hum. Genet.* 77(1): 149-153).

Chuột biến đổi về mặt di truyền mà thiếu khả năng tạo đặc điểm phát triển CFH của AMD, bao gồm bất thường võng mạc, giảm thị lực và lắng đọng bổ thể (Coffey *et al.* (2007) *Proc. Nat. Acad. Sci.* 104:16651-16656). Đột biến trong protein bổ thể Yếu tố B (Montes *et al.* (2009) *Proc. Nat. Acad. Sci.* 106(11): 4366-4371), C2 (Gold *et al.* (2006) *Nat. Genet.* 38(4): 458-462), và C3 (Maller *et al.* (2007) *Nat. Genet.* 39(10): 1200-1201; Yates *et al.* (2007) *New Engl. J. Med.* 357(6): 553-561) có liên quan đến việc tăng hoặc giảm nguy cơ phát triển AMD dựa trên tác động của chúng đối với sự biểu hiện và/hoặc hoạt tính của các protein bổ thể khác nhau (Reynolds *et al.* (2009) *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 50(12): 5818–5827).

Proteaza u-PA được sửa đổi, như proteaza u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này, trong đó hoạt tính, như độ đặc hiệu hoặc tính chọn lọc của cơ chất, của proteaza u-PA để phân cắt protein bổ thể C3 bị thay đổi có thể được sử dụng làm phương pháp điều trị. Các polypeptit u-PA biến đổi được đề xuất trong bản mô tả này được sử dụng, ví dụ, bằng cách tiêm trong cơ thể hoặc tiêm dưới màng phổi hai tháng một lần, và quá trình cũng như sự tiến triển của các triệu chứng được theo dõi so với động vật hoặc đối tượng đối chứng. Mức độ của các thành phần bổ thể có thể làm trầm trọng thêm bệnh cũng có thể được đo bằng cách xét nghiệm hoạt tính của bổ thể trong huyết thanh trong xét nghiệm tán huyết và bằng cách xét nghiệm sự lắng đọng của các thành phần bổ thể, ví dụ như C1, C3 và C9.

Hoạt hóa bổ thể đóng vai trò trong sự tiến triển của bệnh trong thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi (AMD) (xem, ví dụ, Bradley *et al.*, (2011) *Eye* 25:683-693; Gemenetzi *et al.* (2016) 30:1-14). Polypeptit u-PA biến đổi có thể được sử dụng để điều trị AMD. Ví dụ, polypeptit u-PA hoặc dược phẩm chứa polypeptit u-PA, như polypeptit u-PA đã biến đổi được mô tả trong bản mô tả này, có thể được tiêm vào cơ thể, hoặc tiêm trong, hoặc dưới màng não, hoặc quanh da. Polypeptit u-PA biến đổi có thể được định lượng hàng ngày hoặc hàng tuần hoặc ít thường xuyên hơn, như hàng tháng hoặc ít thường xuyên hơn, như hai tháng một lần. Đối với AMD, polypeptit uPA đã biến đổi mà không được "biến đổi" thêm trong thời gian dài trong mắt (ví dụ, protein dung hợp, PEGyl hóa, v.v.) có thể dùng liều hàng tháng (liều lượng hai tháng một lần cũng được

dự tính). Sau khi "biến đổi" thích hợp, có thể 3 tháng một lần (hoặc ít thường xuyên hơn). Polypeptit u-PA đã biến đổi có thể được biến đổi, như bằng PEGyl hóa để giảm khả năng sinh miễn dịch và/hoặc để tăng thời gian bán thải trong huyết thanh. Đối với AMD, polypeptit u-PA đã biến đổi không được biến đổi thêm để kéo dài thời gian tồn tại trong mắt (ví dụ, protein dung hợp, PEGyl hóa) được sử dụng liều hàng tháng hoặc liều hai tháng một lần. Nếu được sửa đổi, như bằng PEGyl hóa, liều lượng có thể được thực hiện 3 tháng một lần hoặc hơn.

e. Cấy cơ quan

Chức năng ghép trễ (DGF)

Polypeptit u-PA biến đổi được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị Chức năng Ghép Chậm (DGF), bao gồm, như DGF do chấn thương do thiếu máu cục bộ-tái tưới máu ở những người ghép thận. Các polypeptit u-PA cũng có thể được sử dụng trong điều trị phản ứng viêm liên quan đến cấy ghép nội tạng có thể góp phần gây tổn thương mô. Nói chung, một polypeptit u-PA có thể được sử dụng đồng thời với hoặc sau một đợt điều trị hoặc sự kiện gây ra tổn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ qua trung gian bổ thể. Trong một ví dụ, polypeptit u-PA có thể được sử dụng cho đối tượng trước khi điều trị đối tượng bằng một sự kiện gây tổn thương do thiếu máu cục bộ, qua trung gian bổ thể, như ghép thận hoặc ghép thận. Tác dụng của polypeptit u-PA đối với việc điều trị chức năng ghép chậm, ví dụ chức năng ghép bị chậm do thiếu máu cục bộ tái tưới máu, có thể được đánh giá trên các mô hình động vật bị thương, bắt chước các đặc điểm hiển thị trong các ca ghép hoặc ghép thận ở người.

Sự có mặt dấu ấn sinh học sớm của rối loạn chức năng ghép sớm dẫn đến DGF, bao gồm các dấu ấn sinh học cho tổn thương tế bào biểu mô ống, có thể cho thấy nhu cầu điều trị. Dấu ấn sinh học của DGF (tức là creatine huyết thanh) đã được xác định (Malyszko *et al.* (2015) *Nature Scientific Reports* 5:11684; Wanga *et al.* (2015) PLoS One 10(9):e0136276). Việc phát hiện sớm các dấu ấn sinh học cho DGF và can thiệp điều trị, như điều trị bằng polypeptit u-PA đã sửa đổi, có thể cải thiện kết quả lâm sàng.

Hoạt hóa bổ thể điều hòa sự tiến triển của bệnh trong rối loạn như chức năng ghép bị trì hoãn sau khi ghép nội tạng, ví dụ như ghép thận (Yu *et al.* (2016) *Am J of Transplantation* 16(9):2589-2597). Polypeptit u-PA biến đổi có thể được dùng để điều trị DGF. Ví dụ, polypeptit u-PA có thể được dùng để phân phối toàn thân hoặc có thể

được tiêm trực tiếp vào mô ghép hoặc mô xung quanh. Polypeptit u-PA biến đổi có thể được dùng trước, trong hoặc sau khi cấy ghép. Polypeptit u-PA biến đổi có thể được định lượng hàng ngày hoặc hàng tuần hoặc ít thường xuyên hơn, như, hàng tháng hoặc ít thường xuyên hơn, như hai tháng một lần. Trong một số trường hợp, một liều toàn thân của polypeptit u-PA đã biến đổi được dùng. Nhiều lần truyền polypeptit u-PA biến đổi trong vài giờ cũng được xem xét.

Polypeptit u-PA biến đổi có thể được phân phối thường xuyên, nếu cần, ví dụ, các polypeptit u-PA đã được sửa đổi, như polypeptit u-PA được sửa đổi được mô tả trong bản mô tả này, có thể được phân phối hàng ngày hoặc theo lịch trình khác để duy trì lượng hiệu quả trong người nhận miếng ghép cùng loài. Các polypeptit u-PA biến đổi có thể được sử dụng để kéo dài thời gian tồn tại của miếng ghép cùng loài ở người nhận, đặc biệt là sự tồn tại mãn tính của miếng ghép cùng loài. Polypeptit u-PA được PEGyl hóa có thể được sử dụng để giảm khả năng sinh miễn dịch.

3. Trị liệu hỗn hợp

Polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sử dụng kết hợp với các thuốc và chất điều trị hiện có khác để điều trị bệnh và tình trạng bệnh. Phương pháp điều trị này có thể được thực hiện cùng với các thuốc chống viêm và/hoặc các chất điều trị khác. Ví dụ của thuốc chống viêm và tác nhân hữu ích cho liệu pháp kết hợp bao gồm thuốc chống viêm không steroid (NSAID) bao gồm salixylat, như aspirin, NSAID truyền thống như ibuprofen, naproxen, ketroprofen, nabumeton, piroxicam, diclofenac hoặc indomethacin, và thuốc ức chế chọn lọc Cox-2 như celecoxib (được bán dưới nhãn hiệu Celebrex®) hoặc Rotecoxin (được bán dưới nhãn hiệu Vioxx®). Các hợp chất khác hữu ích trong liệu pháp kết hợp bao gồm chất chống chuyển hóa như methotrexat và leflunomit, corticosteroit hoặc các steroit khác như cortison, dexamethason, hoặc prednison, thuốc giảm đau như axetaminophen, aminosalixylat như mesalamin và tác nhân gây độc tế bào như azathioprin (được bán dưới nhãn hiệu Imuran®), cyclophosphamit (được bán dưới nhãn hiệu Cytoxan®) và cyclosporine A. Tác nhân bổ sung có thể được sử dụng trong liệu pháp kết hợp bao gồm các chất điều chỉnh phản ứng sinh học. Các chất điều chỉnh phản ứng sinh học có thể bao gồm chất ức chế xytokin chống viêm bao gồm chất ức chế TNF-alpha như etanercept (được bán dưới nhãn hiệu Enbrel®), infliximab (được bán dưới nhãn hiệu Remicade®) hoặc adalimumad (được bán dưới nhãn hiệu Humira®), và chất ức chế IL-1 như anakinra (được bán dưới nhãn

hiệu Kineret®). Chất biến đổi đáp ứng sinh học cũng có thể bao gồm xytokin chống viêm như IL-10, chất nhắm đích tế bào B như kháng thể kháng CD20 (được bán dưới nhãn hiệu Rituximab®), hợp chất nhắm đích kháng nguyên T, chất phong bế phân tử kết dính, chất đối kháng thụ thể chemokin, chất ức chế kinaza như chất ức chế đối với kinaza protein hoạt hóa mitogen (MAP), kinaza đầu tận N c-Jun (JNK), hoặc yếu tố hạt nhân (NF) κB (NFκB) và phối tử thụ thể gamma hoạt hóa peroxisom (PPAR-γ). Tác nhân bổ sung có thể được sử dụng trong liệu pháp kết hợp bao gồm thuốc ức chế miễn dịch. Thuốc ức chế miễn dịch có thể bao gồm tacrolimus hoặc FK-506; axit mycophenolic; chất ức chế calcineurin (CNIs); CsA; sirolimus hoặc các tác nhân khác được biết là ức chế hệ miễn dịch.

Polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này cũng có thể được sử dụng kết hợp với các chất được sử dụng để điều trị bệnh tim mạch và/hoặc được sử dụng trong các quy trình điều trị bệnh tim mạch, như các chất được mô tả trong bản mô tả này góp phần gây ra tình trạng viêm liên quan đến thiếu máu cục bộ qua trung gian bổ thể chấn thương tái tưới máu. Ví dụ, polypeptit u-PA được cung cấp có thể được sử dụng kết hợp với thuốc chống đông máu. Ví dụ về các chất chống đông máu bao gồm, nhưng không giới hạn ở, heparin, warfarin, acenocoumarol, phenindione, EDTA, citrate, oxalate và chất ức chế thrombin trực tiếp như argatroban, lepirudin, bivalirudin và ximelagatran.

Polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này cũng có thể được sử dụng kết hợp với chất được sử dụng để điều trị DGF. Ví dụ, polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sử dụng kết hợp với chất ức chế miễn dịch. Sự kết hợp này rất hữu ích trong việc kéo dài thời gian tồn tại của miếng ghép cùng loài ở người nhận, đặc biệt là sự tồn tại mãn tính của miếng ghép cùng loài. Theo phương án được ưu tiên, hỗn hợp được bào chế và điều chế sao cho phù hợp để sử dụng lâu dài cho người nhận miếng ghép cùng loài, ví dụ, chế phẩm ổn định được sử dụng. Theo một số phương án nhất định, sự kết hợp này được bào chế và điều chế sao cho phù hợp để sử dụng đồng thời polypeptit u-PA biến đổi và thuốc ức chế miễn dịch cho người nhận miếng ghép cùng loài. Theo một số phương án nhất định, sự kết hợp được bào chế và điều chế sao cho phù hợp để sử dụng liên tiếp (theo một trong hai thứ tự) polypeptit u-PA đã biến đổi và thuốc ức chế miễn dịch cho người nhận miếng ghép cùng loài.

Polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này cũng có thể được sử dụng kết hợp với các chất khác mà được dùng để điều trị thoái hóa điểm vàng. Ví dụ, polypeptit u-PA đã được sửa đổi có thể được sử dụng với bất kỳ một hoặc nhiều ranibizumab nào (được bán dưới tên thương mại Lucentis ™); bevacizumab (được bán dưới tên thương mại Avastin ™); pegaptanib natri (được bán dưới tên thương mại Macugen ™); aflibercept (được bán dưới tên thương mại Eylea ™); và osteporfin (được bán dưới tên thương mại Visudyne ™). Các polypeptit U-PA được đề xuất trong bản mô tả này cũng có thể được sử dụng kết hợp với kính viễn vọng cấy ghép, điều trị bằng laser hoặc quang đông bằng laser, phẫu thuật và/hoặc liệu pháp quang động, một mình hoặc kết hợp với thuốc đốt sống trị liệu, để điều trị thoái hóa điểm vàng.

Chất bổ sung, như các chất ức chế bổ thể khác, có thể được sử dụng làm thuốc chống viêm trong liệu pháp kết hợp với polypeptit u-PA đã được sửa đổi như được mô tả trong bản mô tả này. Ví dụ về các chất ức chế bổ thể khác bao gồm yếu tố nọc rắn hổ mang (CVF), các phân tử polyanionic như heparin, dextran sulphat, polyvinyl sulphat, polylysine hoặc suramin, các phân tử tự nhiên như K-76COOH, axit Rosmarinic, hoặc chiết xuất từ cây thuốc Trung Quốc Ephedra, các phân tử tổng hợp như afamastat mesilate (FUT-175), chất ức chế tổng hợp C1 (C1s-INH-248) hoặc chất ức chế chống lại C1 và fD (BCX-1470), chất ức chế peptit như compstatin, chất ức chế kháng thể của bổ thể như kháng thể kháng C5 (N19-8), kháng thể kháng C5 (h5G1,1), kháng C6 hoặc kháng C8 được nhân dòng hóa và các dạng hòa tan của chất điều hòa bổ thể màng như CR1 hòa tan (sCR1), DAF hòa tan (sDAF), MCP hòa tan (sMCF), hoặc CD59 hòa tan (sCD59) (Morgan *et al.*, (2003) *Mol Immunol.* 40:159).

Dược phẩm chứa polypeptit u-PA được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị bất kỳ một hoặc nhiều bệnh hoặc tình trạng viêm qua trung gian hoạt hóa bổ thể. Cũng được đề xuất là sự kết hợp của polypeptit u-PA và phương pháp điều trị hoặc hợp chất khác để điều trị bệnh hoặc tình trạng viêm. Polypeptit u-PA và tác nhân chống viêm có thể được đóng gói dưới dạng chế phẩm riêng biệt để sử dụng cùng nhau hoặc tuần tự hoặc ngắt quãng. Ngoài ra, chúng có thể được cung cấp dưới dạng một chế phẩm để sử dụng hoặc hai chế phẩm để sử dụng như một chế phẩm. Kết hợp có thể được đóng gói dưới dạng bộ kit, tùy chọn với thuốc thử bổ sung, hướng dẫn sử dụng, lọ và các vật chứa khác, ống tiêm và các vật dụng khác để sử dụng polypeptit u-PA biến đổi.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây được bao gồm chỉ dành cho mục đích minh họa và không nhằm mục đích giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1

Nhân dòng và biểu hiện polypeptit u-PA biến đổi và sàng lọc polypeptit u-PA biến đổi đã loại bỏ C3 tại trang QHAR/AS

A. Nhân dòng u-PA

Axit nucleic mã hóa axit amin 179-431 với đột biến C122S bằng cách đánh số chymotrypsin (được nêu trong SEQ ID NO: 5) của polypeptit u-PA của người (Uniprot P00749; đặt ra trong SEQ ID NO: 1) đã được nhân dòng vào pE-SUMO-AMP biểu hiện vector đầu cuối C đến thẻ cải biến giống ubiquitin nhỏ (SUMO). Cấu trúc bao gồm peptit tín hiệu (axit amin 1-20) và miền proteaza (axit amin 179-431).

B. Tạo thành polypeptit u-PA biến đổi

Polypeptit u-PA biến đổi được tạo ra bằng cách gây đột biến hướng vị trí Quikchange (Stratagene) theo hướng dẫn của nhà sản xuất với các oligonucleotit được thiết kế đặc biệt dùng làm mồi để đưa các đột biến đã thiết kế vào ADN mới được tổng hợp. Một phản ứng PCR được thiết lập có chứa ADN u-PA kiểu dại làm khuôn mẫu và các đoạn mồi oligonucleotit được thiết kế để chứa (các) đột biến mong muốn. Sau phản ứng PCR, mỗi sản phẩm phản ứng được tiêu hóa bằng DpnI để loại bỏ các sợi ADN mẹ bị methyl hóa. Sau đó, ADN được biến nạp thành tế bào siêu năng lực *E. coli* XL-1 Blue (Stratagene) và được mạ trên thạch chọn lọc chứa 50 µg/ml carbenicillin. ADN plasmid được phân lập từ các dòng đã chọn và được giải trình tự để xác minh sự kết hợp của (các) đột biến dự định tại (các) vị trí đã chọn trong ADN mã hóa u-PA và không có đột biến bổ sung không mong muốn bất kỳ.

C. Điều chế polypeptit u-PA

1. Biến nạp

ADN mã hóa kiểu dại và mỗi polypeptit u-PA biến thể được nhân dòng vào đầu tận C của vectơ biểu hiện pE-SUMO-AMP với thẻ và vực trước cải biến giống ubiquitin nhỏ (SUMO) như được nêu chi tiết trong phần A ở trên, và cấu trúc thu được được biến đổi thành tế bào E.coli BL21 Gold (DE3) (Công nghệ Agilent, Số danh mục: 230132). Khoảng 50 µL tế bào BL21 Gold (DE3) cạnh tranh về mặt hóa học được biến nạp với

0,5 µL ADN plasmit thích hợp (thường chứa tổng số ADN 1 pg - 50 ng). Tế bào và ADN được ủ trên đá trong 30 phút, tế bào sau đó được sốc nhiệt ở 42°C trong 45 giây và tiếp tục ủ trên đá trong 2 phút. 450 µL môi trường Terrific Broth (TB) nhiệt độ phòng (VWR International, Catalog số 100219-866) được bổ sung vào hỗn hợp, và tế bào được ủ trong môi trường TB trong 1 giờ với lắc 240 vòng/phút ở 37°C. 20 µL hỗn hợp biến nạp này được trải trên môi trường YT 2x + đĩa carbenixillin 100 µg/mL từ Teknova (Cat #: Y4420) và ủ qua đêm ở 37°C.

2. Biểu hiện polypeptit u-PA

Tế bào chứa ADN mã hóa polypeptit u-PA mong muốn (thường thu được từ khuẩn lạc đơn, "xác nhận" từ quá trình biến nạp được mô tả ở trên) được sinh trưởng trong khoảng 50 mL môi trường được chuẩn bị bằng cách kết hợp 50 µL Carbenicillin, 0,3 mL dung dịch Lactose 20%, 5 mL đệm phosphat, và 45ml môi trường Cơ chất Terrific Broth (TB) (Teknova, Số danh mục L0350). Các tế bào và môi trường tăng trưởng được quay với tốc độ 400 vòng/phút trong Máy lắc đa năng Infors ở 37 oC. Sau 18 đến 22 giờ phát triển, vi khuẩn được tạo viên bằng cách ly tâm ở tốc độ 7,000 vòng/phút trong ống ly tâm Falcon 50 ml trong Máy ly tâm Beckman Sorval RC6 Plus với rôto ly tâm Fiberlite F13-14x50cs (Thermo-Fisher) trong 10 phút ở 4 °C. Sau khi ly tâm, chất nổi bề mặt được gạn.

Viên tế bào từ 50 mL môi trường nuôi cấy được tạo huyền phù lại trong 10 ml dung dịch đệm dung giải tế bào A (Tris 50 mM, pH 8,0, NaCl 50 mM, EDTA 2 mM, lysozym 0,1 mg/mL). Viên tế bào được tạo huyền phù lại trong dung dịch đệm A bằng cách lắc với tốc độ 240 vòng/phút trong 1 giờ ở 37°C. Hỗn hợp thu được được đưa vào ly tâm ở 7000 vòng/phút trong 15 phút, và phần nổi phía trên được gạn bỏ. Viên thu được được tạo huyền phù lại trong thuốc thử chiết xuất BugBuster® 10 ml (Merck Millipore, NC9591474) có chứa 20 µL Benzonase™ (Millipore Sigma). Tế bào được tạo huyền phù lại bằng cách quay xoáy và lắc ở 240 vòng/phút trong 1 giờ ở 37°C. Sau khi lắc, nguyên liệu không hòa tan còn lại được tạo viên bằng cách ly tâm ở tốc độ 10000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C, và phần nổi bề mặt được gạn bỏ. Viên thu được được trộn lại bằng cách đồng nhất hóa trong 10 ml dung dịch đệm rửa A [Tris 50 mM (pH 8,0), NaCl 300 mM và Triton X-1001%] bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa Power Gen 500 (Fisher Scientific, 14-261-04P). Hỗn hợp này, chứa thể vùi (IB) polypeptit u-PA tạo huyền phù lại được ly tâm ở tốc độ 10000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C, và

phần nổi bề mặt được loại bỏ. Viên mới được tạo huyền phù lại trong 10 mL dung dịch đệm rửa B (Tris 50 mM (pH 8,0)) và được đồng nhất nhiều lần cho đến khi viên được phân tán tốt. Hỗn hợp thu được lại được ly tâm ở tốc độ 10000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C, phần nổi bề mặt được gạn và viên được để khô trong không khí từ 10 đến 15 phút. Viên thể vùi (IB) polypeptit u-PA này có thể được bảo quản ở -20°C hoặc được sử dụng ngay cho quá trình mở nếp và tái cấu trúc được mô tả dưới đây.

3. Mở nếp uPA

Thể bao gồm protein dung hợp polypeptit SUMO-u-PA không hòa tan được hòa tan và biến tính trong 5 mL dung dịch đệm mở [6M GuHCl, 50 mM Tris pH 8, (Teknova, Số danh mục: G0380)]. DTT mới chuẩn bị được thêm vào nồng độ cuối cùng là 10 mM vào ngày của quy trình gấp lại. Dung dịch IB này được khuấy ở 240 vòng/phút ở 37° C trong ít nhất 1 giờ (thường là 2 giờ), hoặc cho đến khi các thể bao gồm được hòa tan hoàn toàn. Dung dịch IB hòa tan hoàn toàn trong suốt nhưng có thể có màu nâu nhạt.

4. Uốn nếp lại u-PA

5 ml dung dịch polypeptit u-PA mở nếp được mô tả ở trên được chia thành hai phần nhỏ 2,5 ml và mỗi phần được thêm vào 200 ml dung dịch đệm tái tạo [1,5 M Arginine, 50 mM Tris pH 8,0, 150 mM NaCl, 5 mM GSH (L-Glutathione Reduced, Sigma-Aldrich) và 4,0 mM GSSG (L-Glutathione Oxidized, Sigma-Aldrich)]. Dung dịch chứa polypeptit u-PA này được ủ trên máy lắc ở tốc độ 150 vòng/phút trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng để cho phép quá trình gấp nếp diễn ra.

Dung dịch protein thu được được chuyển đến 12000-14000 Dalton khối lượng phân tử cắt (MWCO), ống thẩm tách xenluloza tái sinh (VWR) có chiều dài khoảng 35 cm, và được thẩm tách trong Bis-Tris 25 mM, pH 6,1. Mẫu được thẩm tách ít nhất qua đêm, và thông thường hơn là trong vài ngày. Mẫu thẩm tách chỉ trong một ngày được ủ ở nhiệt độ phòng và mẫu đã thẩm tách hơn một ngày được ủ ở 4°C. Tỷ lệ tối ưu của tổng thể tích dung dịch đệm thẩm tách trên tổng thể tích mẫu ít nhất là 100. Tỷ lệ thấp hơn thường tạo ra sản lượng thấp hơn polypeptit u-PA gấp chính xác. Sau khi thẩm tách, mẫu proteaza được lấy ra khỏi ống thẩm tách và được lọc bằng bình 500 mL 0,22µm (Millipore).

4. Tinh chế cột tiền enzym

Dung dịch protein sau đó được tinh chế sử dụng hệ thống Sulfopropyl Sepharose Fast Flow (SPFF). Cột được chuẩn bị bằng cách thêm 6 mL bùn siêu chảy SPFF (GE Lifesciences) (với khoảng 3 mL nhựa) vào mỗi Cột Econo (BioRad), và dung dịch lưu trữ được phép thoát ra khỏi nhựa. Sau đó, 10 mL Bis-Tris 25 mM pH 6,1, 1 M NaCl sau đó được thêm vào cột chứa nhựa, và dung dịch được phép chảy qua cột. Sau đó, 10 mL Bis-Tris pH 6,1 25 mM được thêm vào cột chứa nhựa, và dung dịch được phép đi qua. Đáy cột được đậy nắp và bảo quản với việc bổ sung 10 mL dung dịch đệm Bis-Tris pH 6,1 25 mM để cân bằng nhựa.

Dung dịch mẫu polypeptit u-PA đã được uốn nếp lại và thẩm thấu được đưa vào cột SPFF đã cân bằng, tiếp theo là 10 ml Bis-Tris 25 mM pH 6,1, 50 mM NaCl. Sau đó, tiền enzym polypeptit u-PA không hoạt hóa được rửa giải với 4 ml 25 mM Tris pH 7,5, 500 mM NaCl được thu vào ống Falcon 50 mL. Sau đó, mẫu được pha loãng với 25 mM Tris độ pH 7,5 đến tổng thể tích là 12 ml.

5. Hoạt hóa u-PA tiền enzym

12 ml mẫu chứa tiền enzym polypeptit u-PA tinh khiết được pha loãng bằng cách thêm 12 ml dung dịch đệm hoạt hóa (25 mM Tris pH 7,5, 20 mM Benzamidine). Sau đó, tiền enzym polypeptit u-PA được chuyển đổi thành proteaza u-PA hoạt động tương ứng với proteaza đặc hiệu giống SUMO Proteaza ubiquitin (ULP-1) từ Saccharomyces cerevisiae. Quá trình "hoạt hóa" tiền enzym polypeptit u-PA được thực hiện bằng cách thêm 120 µg ULP-1 vào tiền enzym tinh chế, xoay nhanh dung dịch và ủ mẫu qua đêm ở nhiệt độ phòng.

6. Tinh chế polypeptit u-PA hoạt hóa

Polypeptit u-PA hoạt hóa được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion. Trước khi tiến hành sắc ký, mẫu được lọc bằng bộ lọc 50 ml. Cột spin của Vivapure Q được điều hòa trước với 5ml Tris 25mM pH 7,5, 1M NaCl và 10ml 25mM Tris độ pH 7,5 sau đó được ly tâm ở 500g trong máy ly tâm Sorvall Legend RT trong 5 phút.

Mỗi mẫu chứa polypeptit u-PA đã hoạt hóa được nạp vào cột Q-spin riêng lẻ theo mẻ 19 mL và được ly tâm ở 500g trong 5 phút cho mỗi lần chạy. Dòng chảy qua chứa u-PA được hoạt hóa không có thẻ SUMO và tiền enzym được thu thập. Độ pH của mẫu u-PA thu được được điều chỉnh bằng cách bổ sung 12 ml axit xitric 25 mM, pH = 5,0 và 60 µL axit xitric 1M. Dung dịch protein thu được sau đó được nạp vào cột spin

Vivapure S đã điều hòa trước. Cột này được điều hòa trước với 5 ml Tris 25 mM pH 7,5, NaCl 1M và 10 ml Tris 25 mM pH 7,5, sau đó ly tâm cột ở 500 g trong 5 phút. Mẫu được nạp vào cột S (HiTrap SP HP; GE Healthcare) trong mẻ 19 ml và cột được ly tâm ở 500 g trong 5 phút. Dòng chảy qua quá trình này được loại bỏ. Sau đó, cột được "rửa" bằng 10 ml natri xitrat 25 mM pH 5,0, NaCl 20 mM. Sau khi rửa cột, ống thu nhận được thay bằng ống mới chứa 7 ml dung dịch đệm pha loãng 50 mM natri xitrat pH 5,0. Sau đó, polypeptit u-PA được rửa giải khỏi cột bằng 7 ml natri photphat 25 mM pH 7,0, 250 mM NaCl. Chất rửa giải, chứa polypeptit u-PA, sau đó được cô đặc và "trao đổi đệm" thành nước muối đệm xitrat (CBS; natri xitrat 20 mM pH 5,0, NaCl 50 mM) sử dụng thiết bị lọc ly tâm Amicon Ultra-15 để đạt được dung dịch cuối cùng nồng độ ≥60 µM (A280 của ≥2,6). Mật độ quang học của dung dịch được đo bằng thiết bị Nanodrop. Chất lượng của chế phẩm được đánh giá ban đầu bởi SDS-PAGE. Hai µg mẫu polypeptit u-PA trong dung dịch đệm mẫu 1X có chứa Bond-Breaker TCEP được nạp trên mỗi "làn" của gel 12 giếng 4-12% PAGE NovexBis-Tris và chạy trong dung dịch đệm chạy 1X MES ở 200 V trong 40 phút. Protein được "hình dung" bằng cách nhuộm gel với Comassie Blue, sau đó là làm mất màu. Phân đoạn chứa dải đơn di chuyển ở khoảng 25 kDa được đông lạnh nhanh trong nitơ lỏng và được bảo quản ở -80°C cho đến khi sử dụng. Chất lượng của mẫu polypeptit u-PA riêng lẻ được đánh giá thêm bằng thử nghiệm hoạt tính và quang phổ khối.

D. Lựa chọn và xác định polypeptit u-PA biến đổi phân cắt C3 để khử hoạt tính

Polypeptit u-PA biến đổi được xác định bằng cách sàng lọc thư viện polypeptit u-PA biến đổi dựa trên serpin đã biến đổi (PAI-1) như được mô tả, ví dụ chi tiết trong patent Mỹ số 8,211,428 (xem, công bố đơn Mỹ số US-2014-0242062-A1). Serpin ức chế, hoặc mảnh của chúng, có khả năng tạo thành enzym axyl cộng hóa trị trung gian giữa serpin và proteaza được sử dụng để sàng lọc. Nói chung, serpin được sử dụng là serpin in *vivo* thường nhắm đích proteaza. Trong thử nghiệm, serpin biến đổi bằng cách thay thế vòng lặp vị trí phản ứng (RSL) của nó để bao gồm trình tự đích (tức là vị trí hoạt động trong C3) bắt giữ proteaza biến đổi sẽ phân cắt vị trí đích để tạo thành phức hợp ổn định. Sau đó, proteaza biến đổi đã bắt được phân lập/xác định. Đối với u-PA, PAI-1, PAI-2, PAI-3, cụ thể là PAI-1 là chất ức chế của chúng, là serpin cognat. Serpin PAI-1 được biến đổi bằng cách thay thế gốc được chỉ ra bên dưới bằng QHARASHLG (gốc 737-745 của C3, SEQ ID NO: 47), là vị trí hoạt động của C3 ở người. Tất cả các

polypeptit u-PA biến đổi đều được chọn để chúng phân cắt trong vị trí hoạt động của C3. Cụ thể là chúng phân cắt giữa R và A.

Q H A R ↓ A S H L

ATIII "mồi" (dưới đây) với trình tự được chèn QHARASHLG (tương ứng với vị trí phân cắt bất hoạt ở C3 (các gốc 737-745 trong số SEQ ID NO: 47)):

```
                  10        20        30        40        50        60
CHHPPSYVAH LASDFGVRVF QQVAQASKDR NVVFSPYGVA SVLAMLQLTT GGETQQQIQA
     70        80        90       100       110       120
AMGFKIDDKG MAPALRHLYK ELMGPWNKDE ISTTDAIFVQ RDLKLVQGFM PHFFRLFRST
     130       140       150       160       170       180
VKQVDFSEVE RARFIINDWV KTHTKGMISH LLGTGAVDQL TRLVLVNALY FNGQWKTPFP
     190       200       210       220       230       240
DSSTHRRLFH KSDGSTVSVP MMAQTNKFNY TEFTTPDGHY YDILELPYHG DTLSMFIAAP
     250       260       270       280       290       300
YEKEVPLSAL TNILSAQLIS HWKGNMTRLP RLLVLPKFSL ETEVDLRKPL ENLGMTDMFR
     310       320       330       340       350       360
QFQADFTSLS DQEPLHVALA LQKVKIEVNE SGTVASSSTL RRQHARASHL EIIIDRPFLF
     370
VVRHNPTGTV LFMGQVMEP
```

Đột biến ở PAI-1 biến đổi ở trên như sau:

RCL	LRRQHARASHL	341	350
Đột biến	V1C	1	1
Đột biến	N150H	150	150
Đột biến	K154T	154	154
Đột biến	Q319L	319	319
Đột biến	A340L	340	340
Đột biến	V341R	341	341
Đột biến	I342R	342	342
Đột biến	V343Q	343	343
Đột biến	S344H	344	344
Đột biến	M347A	347	347
Đột biến	A348S	348	348
Đột biến	P349H	349	349
Đột biến	E350L	350	350

Đột biến	M354I	354	354

Bảng 14, ở ví dụ 2 dưới đây, nêu đột biến, và cung cấp SEQ ID cho miền proteaza mẫu của polypeptit u-PA đã được sửa đổi có chứa các đột biến. Đánh số là đánh số chymotrypsin. Các polypeptit u-PA biến đổi được tạo ra và được chọn lọc để làm bất hoạt C3, với các đột biến được chỉ ra. Trong khi SEQ ID NO. tham chiếu đến miền proteaza, được hiểu rằng các đột biến có thể được bao gồm trong các polypeptit u-PA tiền thân, có chiều dài đầy đủ và đã trưởng thành. Sự thay thế C122S, hoặc sự thay thế bảo toàn khác cho S, được bao gồm để giảm sự kết tụ; trong khi thuận lợi, nó là tùy chọn. Đối với u-PA sửa đổi để sử dụng cho liệu pháp gen hoặc pegylation, sự thay thế C122S không được bao gồm trong u-PA biến đổi hoặc trong axit nucleic mã hóa. C122 có thể đóng vai trò như một vị trí để kết hợp một gốc pegylation hoặc sửa đổi khác. Khi thể hiện *in vivo*, sự tổng hợp nói chung không phải là vấn đề đáng lo ngại. Ngoài ra, đối với dạng hoạt động là dạng chuỗi hai được liên kết bằng liên kết disulfua, các Cys tự do ở dư lượng 122 thường không được sửa đổi thành Ser để sẵn tạo liên kết disulfua.

Ví dụ 2

Phân cắt *in vitro* protein bổ thể C3

Hoạt tính của polypeptit u-PA biến đổi để phân cắt làm bất hoạt C3 được xác định bằng cách đo lượng C3 của người nguyên vẹn còn lại sau khi ủ cơ chất bổ sung cho protein người C3 với các nồng độ khác nhau của mỗi proteaza biến đổi trong 1 giờ ở 37°C. Theo thử nghiệm này, tín hiệu được tạo ra khi có C3 nguyên vẹn của người, và bị mất khi C3 bị phân cắt.

2 μM huyết tương tinh chế của con người C3 (Công nghệ bổ sung; Tyler, TX) được ủ với polypeptit u-PA biến đổi (0 - 250 nM) trong 1 giờ ở 37°C trong dung dịch đệm chứa 50 mM Tris, pH 8,0, 50 mM NaCl và 0,01% Tween-20. Hoạt động của polypeptit u-PA biến đổi đã bị dập tắt bằng cách bổ sung EGR-CMK (Haematologic Technologies, EGRCK-01) đến nồng độ cuối cùng là 10 μM và hỗn hợp polypeptit u-PA biến tính hC3/được cho phép để yên trong 30 phút ở nhiệt độ môi trường xung quanh.

Nồng độ còn lại của C3 ở người chưa phân hủy được định lượng bằng cách sử dụng màn hình thử nghiệm đồng nhất tiệm cận phát quang khuếch đại (được bán dưới nhãn hiệu AlphaScreen®; Perkin Elmer). Hạt tiếp nhận phủ α-IgG của chuột ở 100

µg/mL (Perkin Elmer # 6760606) được ủ với 5 nM α-hC3a mAb của chuột (Abcam # ab11872-50) trong Tris 50 mM, pH 8,0, NaCl 50 mM, Tween-20 0,01% và BSA 0,2% để tạo thành hỗn hợp hạt chấp nhận. Hỗn hợp hạt chấp nhận được che chắn khỏi ánh sáng và đặt trên máy lắc quay trong 30 - 60 phút. Hỗn hợp phản ứng polypeptit hC3/u-PA biến đổi (đã chuẩn bị ở trên) được pha loãng 1600 lần thành phần nhỏ Tris 50 mM, pH 8,0, NaCl 50 mM, Tween-200,01%, BSA 0,2% và 4 µL được đặt trong giếng kép của Optiplate 384 giếng (Perkin Elmer # 6007299). 8 µL hỗn hợp hạt α-hC3 mAb/chất nhận được ủ với 8 µL của α-hC3 pAb của dê được phân loại sinh học 25 nM (được điều chế bằng cách sử dụng bộ kit EZ-Link Sulfo-NHS-LC-Biotin từ Thermo Scientific #21327 từ phiên bản chưa được phân loại sinh học từ công nghệ bổ thể #A213). Sau đó đĩa được che chắn khỏi ánh sáng và ủ trong 30 phút ở nhiệt độ môi trường. Sau thời gian này, 4 µL trong số 100 µg/mL hạt cho được phủ streptavidin (Perkin Elmer #6760606) được bổ sung vào mỗi lỗ và ủ trong 60 phút, tránh ánh sáng. Sau đó, tín hiệu màn hình alpha (kích thích = 680 nm, phát xạ = 570 nm) sau đó được đo bằng đầu đọc tấm đa nhãn Envision 2104 (Perkin Elmer). Tín hiệu này (tương ứng với nồng độ hC3 còn lại ([hC3])) được vẽ biểu đồ dưới dạng hàm của nồng độ Alterase® ([Alterase]) và dữ liệu được phù hợp với phương trình bốn tham số dưới đây để xác định nồng độ của u-PA polypeptit đã biến đổi (nồng độ Alterase®) cần thiết để phân cắt qua 50% hC3 có sẵn (EC_{50}), độ dốc Hill (Hill) cũng như tín hiệu tối đa (Max) và tối thiểu (Min) trong thử nghiệm.

$$[hC3] = Min + \frac{Max - Min}{1 + \left(\frac{[Alterase]}{EC_{50}}\right)^{Hill}}$$

Phân cắt hC3 bằng biến thể u-PA chứa đột biến R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R (xem, SEQ ID NO:21) được đo độc lập tổng cộng 13 lần, sử dụng 9 lô proteaza khác nhau. Giá trị EC50 trung bình cho polypeptit u-PA biến đổi này được xác định là 19 nM (n = 13, SD = 2,2); trong thí nghiệm mà kết quả được báo cáo trong Bảng 14 dưới đây, nó là 24,5 nM.

Khoảng 600 polypeptit u-PA biến đổi bao gồm miền proteaza với đột biến được nêu trong bảng 14. Kết quả được nêu trong bảng 14 dưới đây. Phần lớn polypeptit u-PA biến đổi đã thử nghiệm được phân cắt protein bổ thể C3 của người hiệu quả hơn đáng

kể (tức là ED_{50} thấp hơn) so với miền proteaza u-PA kiểu dại chứa thay thế C122S; nhiều có ED_{50} dưới 100 nM. Polypeptit bao gồm thay thế C122S để ngăn chặn sự kết tụ khi biểu hiện, ví dụ, của miền proteaza. Theo một số phương án, polypeptit u-PA được biến đổi có chiều dài đầy đủ được hoạt hóa để tạo thành polypeptit được hoạt hóa hai chuỗi. Đối với phương án này, miền u-PA proteaza biến đổi không bao gồm thay thế C122S (279 bằng cách đánh số trưởng thành); xystein tạo thành liên kết disulfua (giữa 148C và 279C bằng cách đánh số trưởng thành, có tham chiếu đến SEQ ID NO: 3)

Trong số các biến thể u-PA được thử nghiệm có biến thể ít mạnh hơn u-PA kiểu dại, đặc biệt là những biến thể không có sự phân cắt (tức là được chỉ ra là NA trong Bảng 14 dưới đây) của hC3 được quan sát thấy trong một giờ khảo nghiệm. Các biến thể hoạt tính thấp khác phân cắt ít hơn 25% hC3 trong quá trình thử nghiệm và do đó không được chỉ định ED50. Dựa trên những kết quả này, người có kỹ năng có thể chọn các đột biến làm tăng hoạt tính phân cắt cho C3.

Bảng 14

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
749	R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L	0,92
678	R35W/R36Q/H37S/V38P/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L	2,38
277	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K82R/T97aI/L97bA/H99Q/K110aR/C122S/Y149R/M157K	2,47
280	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/K179R	2,49
278	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K92R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	3,04
614	F30Y/R35V/R36H/H37G/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bW/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149E/M157K	3,47
279	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K92S/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	3,48

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
276	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61R/K62R /T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	3,51
281	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97b A/H99Q/C122S/Y149R/M157K/K179S	3,87
291	R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/T97aI/L 97bA/H99Q/C122S	4,38
690	F30Y/R35W/R36T/H37S/V38S/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97 aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157R/Q192Y	4,47
272	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97b A/H99Q/C122S/M157K	4,68
287	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61S/K62S/ T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	4,75
751	R35A/H37E/R37aG/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L 97bA/H99Q/C122S/Y151L	4,76
676	R35W/R36Q/H37S/V38T/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L9 7bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151P/M157R	4,78
668	F30Y/R35W/H37Y/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L9 7bA/H99Q/C122S/Y149R	4,92
977	V38E/T39W/V41R/D60aW/Y60bP/L97bG/H99L/C122S	4,94
682	R35W/R36K/H37S/V38E/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L9 7bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S/Q192H	5,01
792	R35Q/H37Y/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aQ/Y60bP/T97aI/L 97bA/H99Q/C122S/Y149R	5,14
225	I17V/F30Y/R35Q/R36H/H37W/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97b A/H99Q/C122S/M157K/T158A	5,21
750	R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L9 7bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192H	5,26
10	F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41R/T97aI/L97b A/H99Q/C122S/Y149R/M157K	5,33
675	R35W/R36N/H37S/V38E/T39Y/Y40M/V41R/Y60bN/T97aE/L9 7bA/H99Q/C122S/Y149R/M157S	5,52

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
802	R35Y/H37D/V38E/T39W/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	5,57
288	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K82S/T97aI/L97bA/H99Q/K110aS/C122S/Y149R/M157K	5,82
744	R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/D97T/T97aE/L97bG/A98S/H99L/C122S	6,17
275	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R/M157K	6,24
753	R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	6,24
669	F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	6,35
286	F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/M157K	6,38
981	R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T158A	7,23
656	R35Q/R36H/H37Y/V38E/T39Y/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	7,33
705	R35W/H37P/R37aG/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	7,4
824	V38D/V41Q/D60aH/Y60bS/T97aW/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/R217E/K224R	7,48
731	F30Y/R35W/R36H/H37P/R37aQ/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	7,52
677	F30Y/R35W/R36Q/H37S/V38P/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157R	7,55
679	F30H/R35W/R36T/H37S/V38P/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S	7,59
613	F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K	7,64

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
707	F30Y/R35Y/R36H/H37N/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61E/R72H/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q169K	7,64
688	R35W/R36Q/H37S/V38S/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S/Q192H	8,04
752	R35W/H37G/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T	8,07
19	R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	8,13
290	F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S	8,23
616	F30Y/R35V/R36H/H37G/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	8,3
670	F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	8,44
285	F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	8,44
283	F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/M157K	8,6
284	F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S	8,78
683	F30Y/R35W/R36S/H37S/V38Q/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S/Q192N	8,86
727	F30Y/R35W/R36H/H37P/R37aD/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aE/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	8,9
799	R35Q/H37Y/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	8,95
949	R37aS/V38E/Y40V/V41R/H99L/C122S/Y151L/R217V	9,04
831	V38D/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217E	9,09
33	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	9,27

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
624	F30Y/R35V/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	9,54
223	I17V/F30Y/R35Q/R36H/H37W/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K	9,65
617	F30Y/R35V/R36H/H37S/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bS/T97aM/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/M157K	10,2
703	R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	10,3
706	N26D/F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/R110dS/P114S/C122S/Y149R/M157K	10,3
732	F30Y/R35W/R36H/H37P/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bA/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	10,3
796	R35L/H37D/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	10,4
14	F30Y/R35W/R36H/H37P/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	10,6
29	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	10,6
979	R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T158S/E167K	10,6
24	R35Q/H37Y/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	10,7
633	F30Y/R35Y/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	10,8
12	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	10,8
708	F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/T242A	11,1
557	F30Y/R35L/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A	11,3

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
724	F30Y/R35Y/R36H/H37P/R37aQ/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bH/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	11,3
882	V38D/V41R/L97bR/H99E/C122S/Y151L/R217E	11,4
335	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/R217E/K224R	11,5
746	R35Y/H37V/R37aW/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T	11,6
615	F30Y/R35M/R36H/H37G/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bP/T97aF/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	11,7
684	F30Y/R35W/R36Q/H37S/V38T/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157K/Q192T	11,8
701	R35W/H37D/R37aP/V38E/T39W/V41R/D60aR/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	11,8
260	I17V/F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	11,9
218	I17V/F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149H/M157K/T158A	12
978	R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/I138V/E167K	12,1
680	F30Y/R35W/R36Q/H37S/V38E/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157T/Q192H	12,4
980	R35H/G37bD/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T158S	12,4
794	R35H/H37P/R37aG/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	12,6
611	F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	12,7
926	V38D/T39Y/Y40L/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217E	12,8
224	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A	12,9

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
689	F30H/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40M/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	13
650	R35V/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40M/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	13,1
685	R35W/R36K/H37S/V38A/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157R/Q192T	13,3
628	F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	13,5
717	F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/N145S/S146V/T147M/D148G/Y149Q/L150F/M157K	13,6
275	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R/M157K	13,7
658	F30Y/R35I/R36H/H37D/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	14,1
373	R35V/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	14,4
800	R35Q/H37Y/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aN/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	14,5
957	V38E/Y40Q/V41L/L97bG/H99Q/C122S/R217T	14,5
983	R35H/V38E/T39Y/V41R/T56S/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T158S	14,6
513	F30H/R35Q/H37W/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	14,7
300	R35Q/H37Y/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	14,7
745	R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41K/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192A	14,8
821	V38D/V41R/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217E/K224R	14,8

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
674	F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/Y40H/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	15,1
823	V38D/V41L/Y60bP/T97aM/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/R217E/K224R	15,3
627	F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	15,4
13	F30Y/R35W/R36H/H37N/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	15,7
681	F30Y/R35W/R36K/H37S/V38D/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157R/Q192T	15,9
382	V41R/H99Q/C122S/Y151L/R217V	16
959	V38E/Y40P/V41L/L97bG/H99L/C122S/Y151Q/R217E	16
950	V38E/Y40L/V41R/H99L/C122S/Y151L/R217S	16,1
956	V38E/Y40Q/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151P/R217T	16,4
973	V38E/T39Y/V41R/D60aW/Y60bP/L97bR/H99I/C122S	16,4
20	R35W/H37D/R37aP/V38E/T39W/V41R/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	16,6
597	F30Y/R36H/H37F/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bD/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K	16,8
664	F30Y/R35W/R36H/H37E/S37dP/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	16,8
733	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aA/Y60bP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	17,4
469	R36H/V38D/V41R/A96D/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/T178S/R217D	17,5
830	V38D/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217A	17,7
653	F30H/R35Q/R36H/H37Y/V38E/T39Y/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	17,8

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
264	F30Y/R35W/R36K/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61E/I65T/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	17,9
604	F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bS/T97aL/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K	18
714	F30Y/R35Q/R36H/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aS/Y60bP/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	18,1
743	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aG/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	18,1
666	I24N/F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40L/V41R/Y60bQ/N87D/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	18,2
36	V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S	18,2
217	F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149H/M157K/T158A	18,3
263	F30Y/R35W/R36A/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61D/I65R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	18,4
221	F30Y/R35Q/R36H/H37W/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K	18,6
289	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/K187R/K223R/K224R	18,9
687	R35W/R36Q/H37S/V38E/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S/Q192T	19
986	R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/P60cS/L97bA/H99Q/C122S/I138V/E167K	19,4
18	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	19,5
222	I17V/F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K	19,6
271	R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	19,9
982	R35H/V38E/T39Y/V41R/T56A/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S	19,9

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
538	F30Y/V38D/Y40F/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R	20,2
953	V38E/Y40A/V41L/L97bG/H99Q/C122S/R217T	20,4
665	I24T/F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	20,6
292	F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	20,7
219	I17V/F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A	21,6
747	R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41K/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T	21,7
514	F30H/R35L/H37D/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/R217E	21,8
713	F30Y/R35W/R36H/H37D/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aE/Y60bF/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	21,8
619	F30Y/R35L/R36H/H37G/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bP/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149M/M157K	22,1
505	I17V/F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	22,2
623	F30Y/R35V/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	22,6
11	R35W/R36H/H37N/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H	22,8
360	R35V/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	22,8
729	F30Y/R35M/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	22,9
834	R35Q/V38D/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151L	22,9
961	R37aS/V38E/Y40P/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151Q/R217T	23,4
364	R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	23,5
486	F30H/V38D/V41R/A96G/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	23,7

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
311	T39L/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	23,7
265	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	23,8
34	Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	23,9
586	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/S146F/M157K/Q192H/K243Q	24,1
346	Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	24,1
262	F30Y/R35W/R36Q/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61L/I65V/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	24,4
21	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	24,5
832	R35Q/V38D/V41R/T97aS/L97bA/H99Q/C122S/Y151L	24,8
369	V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V	25,1
30	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	25,3
621	F30Y/R35V/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bP/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149E/M157K	25,4
754	R35A/H37T/R37aD/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192S	25,5
835	R35S/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L	25,7
836	R35S/V38D/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217Q	26,1
562	F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158S	26,3
738	R35Q/H37S/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	26,3
338	H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	26,7
341	H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E	26,8

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
741	R35W/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aE/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	26,9
795	R35Q/H37G/R37aD/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	27,1
798	R35Q/H37D/R37aK/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	27,1
671	R35Y/R36H/H37S/V38D/T39Y/V41R/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	27,3
230	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K	27,9
829	R37aS/V38D/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217T	27,9
484	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	28,1
693	F30Y/R35K/R36H/H37E/R37aK/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	28,1
694	F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aP/Y60bG/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	28,3
261	F30Y/R35W/R36Q/H37E/V38A/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61D/I65V/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	28,4
494	F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/T56A/L97bA/H99Q/C122S/M157K	28,5
797	R35N/H37T/R37aY/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	28,7
984	R37aH/V38E/T39Y/V41R/T56A/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T158A	28,8
515	F30H/R35Q/H37T/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	28,9
503	F30H/R36L/V38E/V41R/K82R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	29
370	V38D/V41R/H99Q/C122S/Y151L/R217V	29,1

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
736	R35Q/H37G/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	29,2
726	F30Y/R35Q/R36H/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aE/Y60bA/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	29,3
704	R35Q/H37Y/R37aD/V38E/T39L/V41R/D60aE/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	29,4
657	F30Y/R35L/R36H/H37E/V38E/T39N/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	29,6
963	R36S/V38E/Y40L/V41N/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217T	29,6
401	T39W/V41R/L97bG/H99Q/C122S	29,7
9	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	29,8
28	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	29,8
940	R35S/R37aA/V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149V	30,2
612	F30Y/R35W/R36H/H37Q/V38E/T39H/Y40H/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K	30,3
715	F30Y/R35Q/R36H/H37Y/R37aD/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bV/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	30,4
171	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/Y151L/M157K	30,6
511	F30H/R35H/H37I/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/Y151L/M157K/R217S	30,6
875	V38D/T39Y/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	30,7
702	R35F/H37D/R37aN/V38E/T39Y/V41R/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	30,9
402	T39Y/V41R/Y60bQ/L97bG/H99Q/C122S	31,1
398	T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S	31,4
881	V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217E	31,5

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
924	R36S/V38D/T39L/Y40L/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217T	31,5
936	R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bV/T97aL/L97bA/H99Q/C122S/Y149L	31,5
350	Y40Q/V41L/Y60bT/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	31,6
496	F30Y/V38E/Y40H/V41R/T56A/L97bA/H99Q/C122S/M157K/K243M	31,9
231	F30Y/R36H/R37aH/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K	31,9
516	F30H/R35Q/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	32
818	V38D/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	32
324	H37G/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	32,1
948	R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	32,2
368	R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S	32,2
351	Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	32,5
551	F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/I138V/M157K	33,1
43	T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S	33,2
696	F30Y/R35H/R36H/H37D/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	33,4
495	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A	33,5
972	V38E/T39W/V41R/D60aP/Y60bD/L97bA/H99L/C122S	33,5
242	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/I65T/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K	33,6
884	V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V	33,7

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
801	R35Q/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	33,8
673	R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	34
958	R36S/V38E/Y40Q/V41R/L97bG/H99L/C122S/Y151P/R217E	34,3
15	V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	34,5
340	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E	34,5
339	H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E	34,8
282	F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/K187S/K223S/K224Y	34,9
39	Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S	35,2
504	F30H/R35H/V38D/V41R/K61E/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/R206H	35,4
8	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	35,7
273	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	35,7
943	R35A/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	35,9
827	V38D/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217Q	36,2
517	F30H/R35Q/H37W/V38D/V41R/D60aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/Y151L/M157K/R217D	36,4
620	F30Y/R35F/R36H/H37G/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bS/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	36,7
399	T39Y/V41R/L97bG/H99Q/C122S	36,8
608	F30Y/R35I/R36H/H37E/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bS/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K	36,9
934	R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	37,2

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
387	Y40H/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/R217T	37,2
645	R35W/H37D/V38D/T39Y/V41R/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	37,4
869	V38D/T39F/Y40L/V41R/T97aW/L97bA/H99Q/C122S	37,8
878	V38D/T39Y/Y40L/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S	37,8
718	F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	38,2
873	V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	38,2
876	V38D/T39Y/Y40L/V41R/T97aW/L97bA/H99Q/C122S	38,4
550	F30Y/R36H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99L/C122S/F141L/M157K/T158A	38,5
728	F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aA/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	38,5
712	F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	38,6
404	T39Y/V41R/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S	39,2
507	F30H/R36H/V38D/V41R/T56A/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	40
720	F30Y/R35E/R36H/H37D/R37aN/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	40
268	V38E/Y40Q/V41L/D60aP/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S/Y149W	40,4
498	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K	40,5
509	F30H/R35Q/H37W/V38D/V41R/D60aE/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/Y151L/M157K	40,8
742	R35Q/H37G/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	40,9
686	F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151P/M157K/Q192H	41

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
710	F30Y/R35M/R36H/H37D/R37aD/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	41,2
618	F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bT/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	41,3
872	V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aV/L97bA/H99Q/C122S	41,6
822	V38D/V41R/Y60bS/T97aI/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192F/R217E/K224R	42,1
403	T39Y/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S	42,1
446	R36H/V38D/Y40F/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151L/Q192E/R217D	42,2
735	R35M/H37G/R37aD/V38E/T39W/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	42,3
543	F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/Q192H	42,4
475	F30H/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157F	42,5
697	H37M/R37aD/V38E/T39A/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	42,7
171	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/Y151L/M157K	42,8
552	T22I/F30Y/R35S/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/I138V/M157K	42,9
734	R35L/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	42,9
561	F30Y/R35L/V38D/Y40H/V41R/N76S/L97bA/H99Q/C122S/M157K/K187E	43,6
481	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157S	43,8
648	R35W/H37D/V38D/T39Y/V41R/Y60bH/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	44,2
595	F30Y/R36H/H37G/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bA/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149Q/M157K	44,6

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
904	R35Q/H37G/R37aE/V38W/T39Y/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	44,6
330	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	44,6
879	V38D/T39Y/Y40M/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S	45
647	R35Q/H37N/V38D/T39Y/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S	45,4
663	F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	45,8
23	R35Q/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	46,1
975	V38E/T39L/V41R/D60aN/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S	46,8
601	F30Y/R36H/H37A/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	46,9
722	F30Y/R35W/R36H/H37E/R37aP/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149Q/M157K	47,7
748	H37T/R37aL/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192R	47,9
325	H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	47,9
667	F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/Y40H/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	48,6
868	V38D/T39W/Y40L/V41R/T97aL/L97bA/H99Q/C122S	48,9
326	H37G/R37aD/G37bD/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	49
42	T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S	49
874	V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aW/L97bA/H99Q/C122S	49,1
584	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/L150V/M157K	49,3
534	R35S/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157Y	49,8

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
925	R37aS/V38D/T39Y/Y40F/V41R/H99L/C122S/R217T	49,9
349	Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	49,9
390	Y40H/V41T/L97bG/H99Q/C122S/R217T	50
506	F30H/R35S/V38E/V41R/Y60bH/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	50,1
877	V38D/T39Y/Y40M/V41R/T97aW/L97bA/H99Q/C122S	50,1
900	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	50,9
737	R35A/H37G/R37aE/V38E/T39F/V41R/D60aE/Y60bP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	51,1
22	H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	51,1
598	F30Y/R36H/H37N/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K	51,4
545	F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157A/Q192Y	51,5
954	V38E/Y40H/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/R217T	51,6
870	V38D/T39Y/Y40Q/V41L/T97aY/L97bA/H99Q/C122S	51,7
942	R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	51,7
358	R35S/Y40Q/V41L/Y60bT/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	52,4
535	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157T	52,9
356	R35K/Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	53,2
692	F30Y/R35V/R36H/H37T/V38E/T39A/Y40L/V41Q/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	53,7
184	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/R217D	54
249	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/I65T/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	54,1

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
672	R36H/H37S/V38E/T39W/V41R/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	54,1
371	V38D/V41R/L97bR/C122S/Y151L/R217V	54,3
553	F30Y/R36S/V38D/T39I/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/S146P/M157K/T158S	54,6
365	R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	54,6
37	V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/H99Q/C122S	54,9
347	R37aE/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S	54,9
709	F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60aS/Y60bP/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	55,3
487	F30H/G37bD/V38D/T39H/V41R/L97bA/H99Q/R110dH/C122S/Y151L/M157K/S240I	55,5
902	R35K/H37A/R37aE/V38H/T39Y/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	55,9
603	F30Y/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bN/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	56
25	R35Q/H37Y/R37aE/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	56,2
436	V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151L/Q192E/R217D	56,3
606	F30Y/R36H/H37E/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bN/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	56,4
337	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E	56,4
587	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149H/M157K/K187R	57,7
232	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	58
44	T39Y/V41R/D60aP/L97bA/H99Q/C122S	58,2

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
329	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	58,5
216	I17V/F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149H/M157K	58,6
519	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/M157K/R217D	58,8
270	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/M157K	59,3
348	R37aE/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	59,3
793	R35N/H37S/R37aE/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	59,5
226	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	59,9
719	F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aL/V38E/T39N/Y40F/V41R/D60aP/Y60bT/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	59,9
625	F30Y/R35V/R36H/H37G/V38E/T39L/Y40H/V41R/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192T/R239H	60,1
903	R35Q/H37G/R37aE/V38Y/T39F/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	60,1
35	V38E/Y40Q/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	60,2
176	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/Y151L/M157K	60,3
381	H99Q/C122S/Y151L/R217V	60,4
841	R35S/V38D/Y40H/V41L/Y60bD/L97bG/H99Q/C122S	61,5
698	R35F/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aE/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	63,4
935	R35V/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bG/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	63,5
951	R36L/V38E/Y40Q/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151P/R217S	63,7

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
600	F30Y/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bV/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	63,9
607	F30Y/R36H/H37G/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aA/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	64,2
947	R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bP/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149K	64,8
555	F30Y/R35L/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	65,1
357	R37aD/Y40Q/V41L/Y60bT/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	65,3
699	R35A/H37D/R37aN/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	65,8
198	I17V/F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	66
267	V38E/Y40Q/V41Q/D60aP/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S/Y149W	66
711	F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aN/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bA/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	66,2
849	V38D/V41R/Y60bR/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	66,2
518	F30H/R35Q/V38D/V41R/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/Y151L/M157K	66,3
313	V38D/T39L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	66,3
937	R37aP/V38E/Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	67,2
591	F30Y/R36H/H37S/V38E/T39L/Y40H/V41R/Y60bH/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	67,5
901	R35Q/H37G/R37aE/V38Y/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	67,6
955	V38E/Y40H/V41T/L97bG/H99Q/C122S/R217T	67,8
833	V38D/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217T	68,6
417	V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/R217D	68,8

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
695	F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39I/Y40F/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149M/M157K	69,2
893	R35G/H37T/R37aE/V38T/T39Y/V41Q/Y60bR/T97aF/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	69,7
932	R37aS/V38D/T39Y/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217T	70,1
233	F30Y/R36H/R37aH/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	70,3
661	F30H/R35L/R36H/H37E/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	70,4
629	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192M	70,8
807	V38E/T39L/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149V/Y151L/Q192T	71,1
199	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/M157K	71,3
725	F30Y/R35F/R36H/H37D/R37aD/V38E/T39H/Y40F/V41R/D60aP/Y60bA/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	71,3
565	F30H/R35Q/H37Y/V38D/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157K	71,4
376	L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V	72,3
960	R37aS/V38E/Y40H/V41T/L97bG/H99Q/C122S/R217T	72,6
307	Y40Q/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	73
466	R36H/G37cD/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/M157T/R217D	75
839	R35K/V38D/Y40H/V41R/Y60bS/L97bG/H99Q/C122S	75,6
299	R35Q/H37Y/R37aE/V38D/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	77,3
592	F30Y/R35L/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bA/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	77,9

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
520	F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149H/M157K	78,3
389	Y40H/V41Q/L97bG/H99Q/C122S	78,4
400	T39H/V41R/L97bG/H99Q/C122S	78,4
315	V38D/T39L/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S	79
740	R35Q/H37G/R37aE/V38E/T39H/V41R/D60aP/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	80,1
716	F30Y/R35A/R36H/H37T/R37aD/V38E/T39Y/Y40L/V41R/D60aP/Y60bE/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	80,7
700	R35Q/H37D/R37aA/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	80,7
312	V38D/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	80,7
651	F30Y/R35L/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192N	80,9
871	R37aS/V38D/T39Y/Y40M/V41R/T97aL/L97bA/H99Q/C122S	81,2
374	R35V/R37aE/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	81,4
359	R37aE/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	81,5
938	R35M/R37aQ/V38E/Y40Q/V41L/Y60bE/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	81,6
38	V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/C122S	82,9
243	F30Y/R36H/V38E/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K	83,5
500	F30Y/R35H/V38D/T39S/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/T147S/M157K	84,7
564	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/Q192H/R239H	85,7
721	F30Y/R36H/H37M/R37aD/V38E/T39G/Y40F/V41R/D60aP/Y60bE/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	85,9

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
523	F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	87,3
544	F30Y/V38D/Y40L/V41Q/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R/Q192Y	88,1
228	F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	88,8
826	V38D/V41Q/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	90
985	R37aH/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S	90,7
547	F30H/V38D/V41Q/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R	91,3
886	V38D/T39Y/Y40L/V41K/L97bR/H99L/C122S/E175D	91,8
944	R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bP/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	91,9
32	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/C122S/Y149R	92,3
542	N26D/F30Y/V38D/Y40H/V41R/I65T/L97bA/H99Q/C122S/M126I/M157K	93,2
946	R35A/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bV/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K	93,4
939	R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bT/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	93,5
508	F30H/R35Q/H37T/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149I/Y151L/M157K/R217D	93,6
541	F30H/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	94,2
377	V38D/H99Q/C122S/Y151L/R217V	94,4
576	F30Y/R35T/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aP/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y149T/M157K	94,7
227	I17V/F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	94,8

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
855	V38D/V41R/Y60bR/L97bR/H99L/C122S/Y151L/E175D/Q192Y/R217E/K224R	94,9
372	R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	95
594	F30Y/R36H/H37E/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	96,3
820	V38D/V41Q/D60aP/Y60bS/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192Y/R217E/K224R	96,4
510	F30H/R35Q/H37Q/V38D/V41R/A96D/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/Y151L/M157K/R217D	96,8
240	F30Y/R35Q/H37Y/V38D/Y40H/V41R/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	98,7
891	H37A/R37aE/V38F/T39L/V41Q/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	99,6
605	F30Y/R36H/V38E/T39V/Y40H/V41R/Y60bH/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149S/M157K	99,7
485	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S	99,9
622	F30Y/R35V/R36H/H37S/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192T	100
585	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/Y60bN/N87D/A96T/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/N145S/M157K/M207K	101
309	V38E/Y40Q/V41L/L97bA/C122S	101
952	R37aS/V38E/V41R/L97bG/H99Q/C122S/R217V	101
445	R36H/V38D/Y40L/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151L/Q192T/R217D	102
649	F30Y/R35Q/R36H/H37G/V38E/T39H/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192M	102
363	R35V/R37aE/Y40Q/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	103
314	V38D/T39L/Y40L/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	104

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
183	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/R217E	105
655	F30L/R35L/R36H/H37D/V38E/T39Y/V41K/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	105
921	R36S/V38D/T39A/Y40F/V41R/L97bA/H99E/C122S/R217T	105
568	F30Y/R35K/H37E/V38D/Y40H/V41R/D60aP/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/M157K	106
691	F30Y/R35L/R36H/H37E/V38E/T39S/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	106
739	R35Q/H37T/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aE/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	106
448	R36H/V38D/Y40I/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Q192A/R217D	107
540	F30Y/R36H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T210S	107
397	T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/C122S	108
208	F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/M157K	109
211	F30Y/V38D/Y40H/V41R/T56A/L97bA/H99Q/C122S/M157K	109
546	F30Y/R36S/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	109
850	V38D/V41R/D60aP/Y60bD/T97aW/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/E175D/Q192A/R217E/K224R	109
842	V38D/V41R/Y60bN/T97aL/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	109
883	R35H/V38D/V41Q/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V	109
967	R35H/V38E/L97bR/C122S/Y151L/R217V	109
447	R36H/V38D/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151L/Q192G/R217D	110
254	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bH/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192A	111

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
385	R37aS/V41R/L97bG/H99Q/C122S/R217V	111
887	R35Q/H37G/R37aN/V38F/T39H/V41Q/Y60bR/T97aL/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	112
164	R36S/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/M157K/R217D	113
210	F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	113
838	R35S/V38D/Y40Q/V41R/Y60bS/L97bG/H99Q/C122S	113
898	H37S/R37aD/V38H/T39L/V41Q/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	113
196	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K	114
310	Y40Q/L97bA/H99Q/C122S	114
355	R37aE/Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	114
945	R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149K	115
643	R35Q/H37M/V38D/T39V/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	116
644	R35L/H37E/V38D/T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	116
450	R36H/V38D/Y40L/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151L/Q192D/R217D	118
497	F30Y/Y34N/V38D/Y40H/V41R/Y94F/S95R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T242I	118
323	R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	118
334	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/Q192T/R217E/K224R	118
392	Y40H/V41T/L97bG/H99Q/C122S	118
8	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	119

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
434	R37aH/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel /C122S/Y151L/Q192G/R217D	119
419	R36H/V38D/V41M/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S /R217D	120
317	V38D/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V	120
201	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/ M157K	121
549	F30Y/R37aH/V38D/Y40H/V41R/K61E/L97bA/H99Q/C122S/M 157K	121
767	V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/K224S	121
888	H37N/R37aD/V38Y/T39F/V41Q/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/ C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	121
452	R36H/V38D/Y40L/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/ C122S/Y151L/Q192R/R217D	122
560	F30Y/R37aS/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	122
837	V38D/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/Q192S/R217A	122
361	R37aD/Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	122
880	R35S/V38D/V41T/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217E	124
40	Y40Q/V41L/L97bA/C122S	124
173	F30H/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/Y151L/M157K	125
229	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	125
322	V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L	125
895	H37A/R37aE/V38Y/T39Y/V41Q/Y60bR/T97aV/L97bR/H99E/ C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	126
892	H37N/R37aE/V38F/T39L/V41Q/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/ C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	127
652	F30Y/R35L/R36H/H37E/V38E/T39L/Y40F/V41R/T97aI/L97b A/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H	129

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
451	R36H/V38D/Y40L/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151M/Q192T/R217D	130
854	V38D/V41R/Y60bR/L97bR/H99L/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	130
308	V38E/Y40Q/L97bA/H99Q/C122S	133
968	V38E/T56I/H99Q/C122S/Y151L/S190G/R217V	134
556	F30Y/S37dP/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	135
964	R35S/V38E/L97bR/C122S/Y151L/R217V/H241N	135
396	T39Y/V41R/L97bA/C122S	135
384	L97bR/C122S/Y151L/R217V	136
599	F30Y/R35L/R36H/H37E/V38E/T39L/Y40H/V41R/Y60bS/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	137
596	F30Y/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bD/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	137
894	R35K/H37S/R37aE/V38F/T39Y/V41Q/Y60bR/T97aL/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	141
269	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99L/C122S/Y149K/M157K	142
840	R35Q/V38D/Y40L/V41L/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S	142
471	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157E	146
429	V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151L/Q192D/R217D	146
501	F30Y/R36S/V38H/Y40L/V41R/N76K/L97bA/H99Q/C122S/M157K	146
195	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K	147
539	F30H/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R/Q192H	149
927	R37aP/V38D/T39L/Y40I/V41R/H99L/C122S/R217Q	150

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
293	V38E/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	152
375	R35V/R37aE/V38E/Y40Q/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	153
214	V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A	154
189	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K/R217E	155
31	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/H99Q/C122S/Y149R	155
393	V41R/L97bG/H99Q/C122S	155
890	R35K/H37G/R37aE/G37bS/V38F/T39H/V41Q/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	156
571	F30Y/R35S/H37G/V38D/Y40H/V41R/D60aP/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	158
602	F30Y/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bM/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	159
203	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	160
843	V38D/V41Q/Y60bR/T97aF/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/E175D/Q192H/R217E/K224R	160
897	H37A/R37aD/V38Y/T39Y/V41Q/Y60bR/T97aD/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	160
896	H37D/R37aD/V38Y/T39Y/V41Q/Y60bR/T97aL/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	162
353	Y40Q/V41L/L97bA/C122S/Y149R	162
488	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/Y151L/M157K/R239H	163
930	R36S/V38D/T39S/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217T	163
906	V38D/T39V/V41R/L97bV/H99E/C122S/R217E	165
962	R37aS/V38E/Y40Q/V41L/L97bG/C122S/Y151P/R217T	166

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
484	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	167
378	V38D/L97bR/C122S/Y151L/R217V	170
593	F30Y/R36H/H37P/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	171
825	V38D/V41K/D60aN/Y60bN/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192H/R217E/K224R	172
889	H37A/R37aE/V38F/T39L/V41Q/Y60bR/T97aF/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	174
345	Y40Q/V41L/H99Q/C122S	174
574	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/R217E	175
730	F30Y/R36H/H37D/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	176
941	R35K/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	178
209	F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K	179
321	V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/C122S	179
245	N26D/F30Y/R36H/R37aH/V38E/Y40H/V41R/K61E/I65T/L97bA/H99Q/C122S/M126I/M157K	185
367	R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/C122S/Y149R	185
483	F30Y/V38D/Y40M/V41R/L97bA/H99Q/C122S	188
768	V38D/L97bV/H99E/C122S/K224S	192
861	V38D/V41R/D60aQ/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S	192
202	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K	194
931	R37aS/V38D/T39G/V41R/L97bM/H99E/C122S/R217S	194

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
521	F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149I/M157K	196
473	F30Y/V38D/Y40H/V41A/L97bA/H99Q/C122S/M157R	197
191	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K/R217E	199
206	F30Y/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	199
327	H37G/R37aD/G37bD/V38F/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	199
41	R37aS/V41R/L97bG/H99Q/C122S	199
244	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K/Q192H	201
248	N26D/F30Y/V38D/Y40H/V41R/I65T/L97bA/H99Q/C122S/M126I/Y149R/M157K	201
864	R35K/V38D/Y40H/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S	201
525	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/E153D/M157K	202
526	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/D148N/M157K/T188S	202
660	R35E/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192T	202
558	F30Y/R37aS/V38D/Y40H/V41R/E86D/L97bA/H99Q/C122S/M157K/F234Y	203
723	F30Y/R35Q/R36H/H37D/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aE/Y60bG/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	203
563	F30Y/R37aS/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/K187Q/T208S	205
465	R36H/V38D/V41R/A96D/D97G/T97aN/A98G/L97bdel/H99L/C122S/Q192R/R217F	208
170	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/R217D	208

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
583	F30Y/R35T/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aT/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	208
609	F30Y/R35L/H37D/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bT/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	212
352	R37aE/Y40Q/V41L/L97bA/C122S	212
920	R36S/V38D/T39K/Y40F/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217S	213
320	V38D/T39L/Y40L/V41K/L97bR/H99L/C122S/E175D	215
169	V38D/V41R/A96E/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151L/T178S/Q192E/R217D	217
588	F30Y/R37aP/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/E84D/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T242I	219
190	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K/R217D	222
566	F30Y/R35T/H37Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	230
536	R37aL/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157S	231
760	V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217E/K224R	234
478	F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157R	235
238	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149T/M157K	235
234	F30Y/R35Q/H37D/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149S/M157K	236
207	F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K	238
344	Y40Q/V41L/C122S	238
554	F30Y/Y34S/R37aH/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K	239
354	R37aE/Y40Q/V41L/L97bA/C122S/Y149R	245

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
247	N26D/F30Y/V38D/Y40L/V41R/I65T/L97bA/H99Q/C122S/M126I/M157K	247
476	F30Y/V38D/Y40H/V41N/L97bA/H99Q/C122S	250
524	F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/T56A/L97bV/H99Q/R116S/C122S/M157K/T210N	250
212	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151F/M157K	252
388	Y40H/V41Q/L97bG/C122S/R217T	252
974	V38E/T39H/D60aP/Y60bK/L97bG/H99Q/C122S	252
205	F30Y/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K	255
167	V38D/Y40P/V41K/L97bA/H99Q/C122S	257
573	F30Y/R35T/H37A/V38D/Y40H/V41R/D60aP/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K/R217Y	263
559	F30Y/R37aH/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/S174P	267
569	F30Y/R35L/H37D/V38D/Y40H/V41R/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	267
578	F30Y/R35S/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	270
383	L97bR/H99Q/C122S/Y151L	271
572	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/M157K	275
200	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K	276
250	F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	277
567	F30Y/R35T/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/R217K	277
477	F30S/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K	279

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
819	V38D/V41Q/D60aK/Y60bD/T97aA/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192Y/R217E/K224R	279
186	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K/R217E	280
976	V38E/T39H/D60aP/Y60bW/L97bG/H99Q/C122S	281
662	F30H/R35L/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41Q/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	284
316	V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aI/H99Q/C122S	284
757	V38D/L97bR/H99Q/C122S/E175D/R217E/K224R	292
923	R37aS/V38D/T39L/Y40L/V41R/L97bM/H99L/C122S/R217S	292
654	F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192Y	297
637	R35E/H37D/V38D/T39N/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	306
766	V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/K224A	306
763	V38D/L97bV/H99L/C122S/E175D/K224S	310
813	V38D/L97bR/H99L/C122S/E175D/K224A	310
912	R37aP/V38D/T39Y/V41R/L97bV/H99Q/C122S/R217T	316
175	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151M/M157K	321
502	F30H/V38D/V41R/L73Q/L97bA/H99Q/E110bD/C122S/Y149N/Y151L/M157K	321
582	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	324
817	V38D/L97bT/H99E/C122S/E175D/K224S	326
204	F30Y/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K	330
522	F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149H/M157K	331

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
589	F30Y/R37aP/G37bD/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/M157K	331
237	F30Y/R35Q/V38Y/Y40H/V41R/D60aE/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149V/M157K/R217M	332
764	V38D/L97bR/H99L/C122S/E175D/R217E	333
235	F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K	338
773	V38D/L97bG/H99Q/C122S/R217Q	338
187	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K/R217D	341
933	R35E/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	342
610	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aK/Y60bV/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	344
581	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aP/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/R217K	345
865	R35Q/V38D/Y40M/V41R/Y60bA/L97bG/H99Q/C122S	345
252	F30Y/R36H/V38E/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K/Q192H	346
331	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	347
26	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	348
866	R35K/V38D/Y40F/V41R/Y60bT/L97bG/H99Q/C122S	348
579	F30Y/R35H/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aR/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	349
774	F30H/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157T/Q192H	349
380	L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V	351
860	R35S/V38D/V41L/D60aP/Y60bW/L97bG/H99Q/C122S	353

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
391	Y40H/V41T/L97bG/C122S/R217T	357
301	V38E/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	364
815	V38D/L97bK/H99L/C122S/E175D/K224A	365
302	L97bG/H99Q/C122S/R217Q	367
646	R35G/H37G/V38D/T39W/V41A/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S	370
636	R35F/H37G/V38D/T39H/V41A/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	371
332	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	371
193	F30Y/H37D/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K/R217E	378
862	R35Q/V38D/Y40H/V41L/Y60bD/L97bG/H99Q/C122S	380
828	V38D/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/Q192S/R217A	385
965	R35S/V38E/H99Q/C122S/S146F/Y151L/V159L/K179N/Q192R/R217V/T242S	408
590	F30Y/R35L/R36H/H37P/V38E/Y40H/V41R/Y60bG/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	409
971	V38E/T39R/D60aP/Y60bD/L97bG/H99Q/C122S	412
846	R37aS/V38D/V41R/Y60bT/T97aD/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/E175D/Q192A/R217E/K224R	413
318	V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/R217V	418
438	R36H/V38D/Y40F/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151L/Q192D/R217D	421
537	F30N/V38D/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R	428
899	H37G/R37aD/V38Y/T39H/V41Q/Y60bR/T97aD/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	433
659	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39S/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192A	434

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
844	V38D/V41R/D60aP/Y60bD/T97aP/L97bR/H99Q/C122S/Y151L /E175D/Q192R/R217E/K224R	437
460	F30Y/R36H/V38D/V41K/D97E/T97adel/A98G/L97bdel/H99L/ C122S/R217D	445
274	L97bA/H99Q/C122S	449
966	F30Y/R37aH/V38E/H99Q/C122S/Y151L/R217V	449
246	N26D/F30Y/V38D/Y40H/V41R/I65T/L97bA/H99Q/C122S/M1 26I/M157K/Q192H	455
253	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39S/Y40H/V41W/Y60bW/T9 7aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192Y	463
970	V38E/T39S/V41L/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S	464
319	V38D/Y40L/V41K/L97bR/H99L/C122S/E175D	466
236	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y 149Q/M157K/R217S	470
297	V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217E	470
343	V41L/L97bA/H99Q/C122S	471
366	R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/H99Q/C122S/Y 149R	478
640	R35F/H37E/V38D/T39S/V41A/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S	487
333	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/ H99E/C122S/E175D/Q192T/R217E/K224R	499
213	V38D/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A	503
256	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39R/Y40H/V41W/Y60bW/T9 7aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192Y	511
529	F30H/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157L/Q192H	515
492	F30Y/R37aH/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	516
239	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bE/L97bA/H99Q/C 122S/Y149L/M157K/R217S	530

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
814	V38D/L97bM/H99S/C122S/K224S	538
575	F30Y/R37aD/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M126K/M157K	539
394	V41Q/L97bG/H99Q/C122S	547
435	V38D/Y40P/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Q192L/R217D	557
258	F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39R/Y40H/V41W/Y60bW/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H	569
908	R36S/V38D/T39H/Y40L/V41R/L97bV/H99V/C122S/R217Q	574
638	R35Q/H37Y/V38D/T39A/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Q192S	575
845	V38D/V41Q/Y60bP/T97aW/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/E175D/Q192K/R217E/K224R	578
907	R37aH/V38D/T39M/Y40A/V41K/L97bR/H99Q/C122S/R217E	582
328	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R	594
811	V38D/L97bR/H99L/C122S/E175D/R217E/K224R	610
848	R37aS/V38D/V41R/D60aS/Y60bP/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/E175D/Q192R/R217E/K224R	614
570	F30Y/R35H/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K/R217K	622
295	V38E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	630
499	F30Y/R35H/V38D/T39S/Y40H/V41R/S75P/L97bA/H99Q/C122S/M157K/I163M/Q204H/K243E	632
528	F30Y/V38D/Y40M/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R/Q192M	641
395	V41T/L97bG/H99Q/C122S	646
463	R36H/V38D/V41M/A55S/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/R217D	647

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
928	V38D/T39V/Y40L/V41S/H99V/C122S/R217V	653
577	F30Y/R35H/H37D/V38D/Y40H/V41R/D60aK/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	659
759	V38D/L97bR/H99L/C122S/E175D/R217E/K224S	661
769	V38D/L97bK/H99L/C122S/R217E	673
174	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151F/M157K	688
867	R35Q/V38D/Y40F/V41T/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S	698
462	R36H/V38D/V41M/F59I/D97E/T97adel/A98G/L97bdel/H99L/C122S/R217D	702
969	F30Y/V38E/L97bR/C122S/Y151L/R217V	702
914	V38D/T39H/Y40F/V41K/L97bM/H99T/C122S/R217E	717
386	R37aS/V41R/L97bG/C122S/R217V	726
379	V38D/L97bR/H99Q/C122S/R217V	731
885	R37aS/V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/Q192T/R217V	738
27	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	743
362	R35V/R37aE/V38E/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	765
241	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/Q192H	778
527	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/K223N/P236S	781
255	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39Q/Y40H/V41W/Y60bW/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192F	802
490	F30Y/R37aH/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/R110dH/C122S/M157K/V160I	808
630	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39V/Y40H/V41W/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H	819

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
771	V38D/L97bV/H99L/C122S/K224A	824
444	R36H/V38D/Y40F/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151M/Q192D/R217D	825
479	F30Y/R36H/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151M/M157Y/Q192A	830
812	V38D/L97bT/H99L/C122S/E175D/R217K	851
294	V38E/T97aE/L97bA/H99Q/C122S	862
580	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bK/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/R217I	917
816	V38D/L97bR/H99V/C122S/E175D/R217E/K224R	930
853	V38D/V41Q/Y60bP/T97aY/L97bR/H99L/C122S/Y151L/E175D/Q192K/R217E/K224R	960
922	R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/L97bG/H99S/C122S	989
852	V38D/V41Q/D60aN/Y60bP/T97aN/L97bR/H99I/C122S/Y151L/E175D/Q192R/R217E/K224R	993
635	R35Q/H37D/V38D/T39H/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Q192T	998
548	F30H/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151F/M157K	1000
259	F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39R/Y40H/V41W/Y60bW/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192F	1030
847	V38D/V41K/D60aE/Y60bP/T97aA/L97bR/H99L/C122S/Y151L/E175D/Q192R/R217E/K224R	1040
851	V38D/V41Q/D60aN/Y60bP/L97bR/H99L/C122S/Y151L/E175D/Q192R/R217E/K224R	1040
336	H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/K224R	1040
639	R35Q/H37Y/V38D/T39F/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Q192G	1130

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
215	F30Y/R37aH/V38D/Y40Q/V41I/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/ M157W/Q192Y	1140
631	F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39A/Y40H/V41W/Y60bV/T9 7aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H	1170
859	R36H/V38D/T97aR/L97bG/H99Q/C122S/E175F	1180
177	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/Y151F/M157K	1190
305	V38D/L97bG/H99Q/C122S	1190
909	R36S/V38D/T39K/Y40F/V41R/L97bN/H99E/C122S/R217S	1230
251	F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/Q192H	1240
423	V38D/L97bA/H99Q/C122S	1310
916	V38D/T39L/Y40L/V41K/L97bH/H99L/C122S/R217A	1320
642	R35Q/H37G/V38D/T39W/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S/ Y149R/Q192G	1340
929	R37aS/V38D/T39V/V41E/L97bG/H99Q/C122S/R217T	1390
626	F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39L/Y40H/V41W/Y60bE/T97 aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192F	1450
863	R37aS/V38D/V41R/D60aT/Y60bN/L97bG/H99Q/C122S	1450
805	V38E/T39W/V41T/D60aP/Y60bW/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/ Y149L/Y151G/Q192T	1480
770	V38D/L97bR/H99L/C122S/E175D/R217T/K224S	1570
808	V38D/L97bR/H99M/C122S/E175D/R217E	1570
424	R36S/V38D/L97bR/H99E/C122S/R217D/K224R	1580
432	R36H/V38D/V41R/A96D/D97G/T97adel/A98G/L97bdel/H99L/ C122S/Y151F/Q192D/R217D	1600
809	V38D/L97bR/H99M/C122S/E175D/R217E/K224R	1660
634	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39V/Y40H/V41W/Y60bA/T9 7aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192A	1760

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
197	I17L/F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	1790
632	F30Y/R35Y/R36H/H37P/V38E/T39R/Y40H/V41W/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K/Q192F	1900
810	V38D/L97bR/C122S/E175D/R217E/K224R	1990
761	V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217S/K224S	2040
532	F30H/V38D/Y40H/V41Q/L97bA/H99Q/C122S/Q192H	2110
482	F30Y/V38D/Y40H/V41K/L97bA/H99Q/C122S/Y151R/M157R	2190
491	F30Y/A32E/Y34N/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	2210
422	A32S/V38D/H99E/C122S/K224A	2230
493	F30Y/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	2240
762	V38D/L97bR/H99V/C122S/E175D/R217E/K224N	2240
533	F30Q/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151H/M157R/Q192Y	2300
179	F30H/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/Y151F/M157K	2390
772	V38D/L97bR/H99V/C122S/E175D/R217E/K224S	2490
756	V38D/L97bR/H99E/C122S/Y172F/E175D/R217E	2720
154	V38D/T97adel/L97bdel/C122S	2950
180	F30H/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/Y149N/Y151F/M157K	3230
765	V38D/L97bG/H99Q/C122S/E175D/R217K/K224A	3310
5	C122S	3380
192	F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K/R217G	3860
461	R36H/V38D/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/V213A/R217D	4030
182	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/R217G	4210

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
489	F30Y/A32E/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	4280
172	F30Y/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/Y151F/M157K	5890
178	F30Y/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/M157K	6030
181	F30Y/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/Y149N/Y151F/M157K	7110
530	F30H/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157S/Q192L	7340
194	F30Y/H37D/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/ M157K/R217G	7760
755	V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217A/K224S	7770
758	V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217A/K224Q	7770
775	F30Y/V38D/Y40H/V41K/L97bA/H99Q/C122S/Y151K/M157R/ Q192E	7770
776	F30Y/V38D/Y40H/V41K/L97bA/H99Q/C122S/Y151K/M157S/ Q192E	7770
777	F30Y/V38D/Y40H/V41K/L97bA/H99Q/C122S/Y151K/Q192E	7770
778	F30M/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151G/Q192T	7770
779	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151M/M157R/Q192 T	7770
780	F30H/V38D/Y40P/V41K/L97bA/H99Q/C122S/Y151H/M157E/ Q192A	7770
296	V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D	7770
804	V38E/T39W/V41T/D60aP/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/ Y149V/Y151G/Q192T	7770
303	V38D/H99Q/C122S/R217Q	7770
304	V38D/L97bG/C122S/R217Q	7770
856	V38D/V41R/L97bT/C122S/Y151F/R217E	7770
858	V38D/V41R/L97bN/H99E/C122S/E175D/Q192M/R217E	7770
911	R36H/V38D/T39R/Y40F/V41R/H99S/C122S/R217T	7770

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
918	R36S/V38D/T39A/V41R/L97bV/H99S/C122S/R217T	7770
905	R36L/V38D/T39R/Y40L/V41T/L97bD/H99P/C122S/R217S	7770
913	R36S/V38D/T39K/Y40M/V41K/L97bI/C122S/R217E	7770
919	R37aH/V38D/T39R/Y40F/L97bT/C122S/R217E	7770
910	V38D/T39K/Y40F/V41Q/L97bI/H99S/C122S/R217T	7770
917	V38D/T39F/Y40L/V41K/L97bT/H99S/C122S/R217T	7770
480	F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157T/Q192L	9990
474	F30H/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151R/M157K	9990
472	F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151F/M157K/Q192W	9990
185	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K/R217G	9990
188	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K/R217G	9990
266	F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K/Q192P	9990
781	R37aH/V38E/T39S/D60aR/Y60bG/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149T/Y151S	9990
782	R37aH/V38E/T39A/V41R/D60aG/Y60bG/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149V/Y151F/Q192R	9990
783	R37aH/V38E/T39H/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149M/Y151N/Q192T	9990
784	R37aH/V38E/T39G/V41A/D60aG/Y60bE/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151K/Q192T	9990
785	V38E/T39D/V41A/D60aA/Y60bR/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/Y151K/Q192T	9990
786	V38E/T39A/V41R/D60aH/Y60bH/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149M/Y151N/Q192T	9990

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
787	V38E/T39F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149A/Y151G/Q192T	9990
789	R37aH/V38E/V41A/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149A/Y151M/Q192T	9990
790	R37aH/V38E/T39S/V41A/D60aG/Y60bE/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149S/Y151H	9990
791	R37aP/V38E/T39G/V41R/Y60bR/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149T/Y151P/Q192T	9990
788	V38E/T39D/V41A/D60aS/Y60bR/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/Y151K/Q192T	9990
298	V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/K224R	9990
806	V38E/T39W/V41Q/Y60bE/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149I/Y151G/Q192T	9990
803	V38E/T39W/V41T/Y60bK/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149I/Y151G/Q192T	9990
857	V38D/V41K/L97bA/H99L/C122S/Y151R/R217E	9990
915	R36S/V38D/T39K/Y40M/V41K/L97bH/H99T/C122S/R217S	9990
641	R35D/H37R/V38D/T39V/V41T/Y60bT/L97bA/H99Q/C122S/Q192A	16600
5	C122S	NA
154	V38D/T97a_L97bdel/C122S	NA
155	L73R/L97bG/H99Q/C122S	NA
409	V38D/V41T/A96E/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/E175K/R217H	NA
407	V38D/V41S/A96E/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/E175K	NA
NA	V38D/V41S/D97E/A96_-nulldelinsVG/A98_H99del/C122S/E175K/R217H	NA
408	V38D/V41A/A96_T97adelinsERG/A98_H99del/C122S/E175N	NA

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
NA	V38D/V41L/A96_A98del/-null_H100insRGL/C122S/Y172E/E175P	NA
406	V38D/V41S/A96D/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/E175S	NA
NA	V38D/V41A/A96del/-nulldelinsRG/A98_H99del/C122S/E175N/R217delinsF	NA
405	V38D/V41S/A96_T97adelinsERG/A98_H99del/C122S/E175A	NA
156	V38D/L73R/L97bG/H99Q/C122S	NA
NA	V38D/A96_-nulldelinsVG/D97E/A98_H99del/C122S	NA
NA	V38D/V41Q/A96_-nulldelinsAG/D97E/A98_H99del/C122S/R217K/K224R	NA
NA	R35S/V38_Y40delinsDRF/D60adelinsY/A96del/-nulldelinsLK/A98_H99del/C122S/Y151L	NA
NA	R35T/V38_V41delinsDRF/V41M/D60aP/A96del/-nulldelinsLK/A98_H99del/C122S/Y151L	NA
NA	R35K/V38_-nulldelinsDQHR/A96del/-nulldelinsLK/A98_H99del/C122S/Y151W	NA
410	R35K/V38D/T39S/Y40F/V41M/D60aN/A96D/D97L/A98K/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151L	NA
NA	R35K/V38D/T39S/Y40F/V41M/D60aN/A96del/-nulldelinsLK/A98_H99del/C122S/Y151L	NA
NA	R35S/V38E/T39S/Y40H/V41R/A96del/-nulldelinsLK/A98_H99del/C122S/Y151W	NA
NA	R35K/V38D/T39K/Y40F/A96del/-nulldelinsLK/A98_H99del/C122S/Y151delinsG	NA
411	V38D/V41R/A96E/D97G/T97adelinsSG/A98_H99del/C122S	NA
412	V38D/L97bG/H99P/C122S/R217V/K224Q	NA
412	V38D/L97bG/H99P/C122S/R217V/K224Q	NA
413	V38D/A96G/D97R/A98G/T97adel/H99I/L97bdel/C122S	NA

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
NA	V38D/A96_-nulldelinsRGI/A98G/C122S	NA
414	V38D/A96E/D97E/T97aG/A98_H99del/L97bM/C122S	NA
NA	V38D/V41R/A96del/-null_T97ainsG/-null_L97binsG/A98_H99del/C122S/R217A	NA
415	V38D/V41R/A96D/D97G/T97aN/A98G/L97bdel/H99L/C122S/R217F	NA
NA	V38D/V41R/-nulldelinsDG/D97N/T97aG/A98_H99del/C122S/R217delinsF	NA
NA	V38D/V41R/A96E/-null_L97binsG/D97E/A98_H99del/C122S/E175K/R217E/K224S	NA
416	V38D/V41Q/A96E/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/R217H	NA
416	V38D/V41Q/A96E/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/R217H	NA
NA	V38D/V41S/A96del/-nulldelinsRG/A98_H99del/C122S/R217delinsY	NA
NA	V38D/V41R/A96del/-nulldelinsGG/A98_H99del/C122S/R217D	NA
418	V38D/V41K/A96D/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/R217K/K224N	NA
419	R36H/V38D/V41M/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/R217D	NA
419	R36H/V38D/V41M/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/R217D	NA
420	V38D/V41H/A96D/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/R217delinsF	NA
421	V38D/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/E175G/R217H	NA
NA	V38D/A96P/D97_-nulldelinsVG/A98_H99del/C122S	NA
157	L97bP/H99L/C122S	NA
NA	-null_H99delinsRVG/L97bM/C122S	NA

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
NA	V41R/A96del/-null_T97ainsG/-null_L97binsG/A98_H99del/C122S	NA
NA	-null_H99delinsRG/D97G/L97bM/C122S/R217E/K224R	NA
423	V38D/L97bA/H99Q/C122S	NA
425	V38D/V41Q/A96N/D97G/T97aI/A98G/L97bdel/H99L/C122S	NA
427	V38D/V41K/A96K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S	NA
426	R35S/V38D/V41T/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S	NA
428	R36H/V38D/V41S/A96E/D97R/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/K224R	NA
158	R37aP/V38D/V41R/A96D/D97G/T97aN/A98G/L97bdel/H99L/C122S/M157K/R217F	NA
159	R37aS/G37bD/V38D/V41R/A96D/D97G/T97aN/A98G/L97bdel/H99L/C122S/R217F	NA
160	R36H/V38D/V41R/A96D/D97G/A98R/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/M157K/R217D	NA
161	R37aH/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/S174P/R217D	NA
162	R37aH/V38D/V41G/A96G/D97E/T97aA/A98G/L97bdel/H99M/C122S/Y151N	NA
163	R36S/V38D/Y40L/V41R/A96P/D97V/T97aR/A98G/L97bdel/H99L/C122S	NA
165	V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Q192E/R217D	NA
166	F30Y/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/M157K/R217D	NA
431	V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151K/Q192E/R217D	NA
433	V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151W/Q192M/R217D	NA

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
437	V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151N/Q192M/R217D	NA
439	R36H/V38D/Y40H/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151K/Q192V/R217D	NA
440	R36H/V38D/Y40L/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151R/Q192L/R217D	NA
441	R36H/V38D/Y40V/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151F/Q192F/R217D	NA
442	R36H/V38D/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151K/Q192E/R217D	NA
443	R36H/V38D/Y40L/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151K/Q192E/R217D	NA
449	R36H/V38D/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151K/Q192E/R217D	NA
453	R36H/V38D/Y40F/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151R/Q192E/R217D	NA
454	R36H/V38D/Y40L/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151N/Q192V/R217D	NA
455	R36H/V38D/Y40L/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151N/Q192D/R217D	NA
456	R36H/V38D/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151K/Q192E/R217D	NA
457	R36H/V38D/Y40F/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151K/Q192E/R217D	NA
458	R36H/V38D/Y40I/V41A/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151M/Q192L/R217D	NA
459	R36H/V38D/Y40H/V41M/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/R217D	NA
464	R36H/V38D/V41R/A96D/D97G/T97aN/A98G/L97bdel/H99L/C122S/G193R/R217F	NA

SEQ ID NO*	Chuỗi đột biến	ED50 (nM)
467	V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Q192R/R217D	NA
468	F21S/R36H/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/E175D/R217D	NA
470	R36H/V38D/V41R/A96D/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/G193R/R217D	NA
168	V38D/Y40P/V41K/L97bA/H99Q/C122S/M157K	NA
430	V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151M/Q192E/R217D	NA
512	F30H/R35T/H37M/V38D/V41R/D60aS/Y60bT/L97bA/H99Q/A112V/C122S/Y151L/M157K/R217T	NA
220	V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S	NA
531	F30N/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157S/Q192H	NA
257	F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39S/Y40H/V41W/Y60bW/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192F	NA
306	V38D/L97bG/H99Q/C122S/S195A/R217Q	NA
342	V38D/C122S/S190H/G216A	NA

* SEQ ID của miền proteaza làm ví dụ chứa thay thế

Ví dụ 3

Hoạt tính kháng C3 của biến thể u-PA ở huyết tương khỉ cynomolgus

Hoạt tính kháng C3 *ex vivo* của một số polypeptit u-PA biến đổi được đo trong huyết tương của khỉ cynomolgus mua (BioChemed). Liều có hiệu quả trung bình (ED_{50}) của polypeptit u-PA đã biến đổi để phân cắt C3 được tính toán bằng ELISA. Một cách ngắn gọn, polypeptit u-PA biến đổi làm ví dụ được pha loãng theo thứ tự 1:1,5 lần từ 1000 nM đến 39,0 nM (độ pha loãng 9 điểm). Chuẩn hC3 được pha loãng theo thứ tự 1:1,5 lần từ 450 đến 39 (độ pha loãng 7 điểm) trong BSA 1% trong 1X PBST (nước muối đệm phosphat Tween-20) Công thức cho 1X PBST bao gồm:

1. Hòa tan chất sau trong 800 ml H_2O cất

- 8g NaCl
- 0,2g KCl
- 1,44g Na_2HPO_4
- 0,24g KH_2PO_4
- 2ml tween-20

2. Điều chỉnh độ pH đến 7,2

3. Điều chỉnh thể tích thành 1L với H_2O cất bổ sung

4. Khử trùng bằng nồi hấp.

Huyết tương dịch thủy tinh 80% Cynomolgus (thu được từ BioChemed) trong chất đệm chứa 50 mM Tris, pH 8,0, 50 mM NaCl, và 0,01% Tween-20, và các dung dịch pha loãng của C3, được ủ với polypeptit u-PA biến đổi ở nồng độ cuối cùng là 0,1 µM ở 37°C trong 10 phút. 80% dịch phân hủy trong huyết tương được pha loãng 1: 15,625 trong 1% BSA trong 1X PBST bằng cách sử dụng hệ thống xử lý chất lỏng Biomek (Beckman Coulter). Đĩa EIA đáy phẳng (Bio-Rad) được phủ kháng thể A213 tinh khiết (kháng C4; sản phẩm đặc biệt của Quidel) ở 2,0 µg/mL, được ủ với 50 µL/lỗ mẫu hoặc chất chuẩn và được phát hiện bằng kháng thể Anti-hC3a (ab11872; Abcam) trong 1% BSA trong 1x PBST. Các lỗ được phủ thêm kháng thể HRP liên hợp Dê chống chuột-HRP (Jackson ImmunoResearch; số danh mục: 115-035-003) ở độ pha loãng 1: 30,000 trong 1% BSA trong 1x PBST và được phát triển với cơ chất HRP WesternBphải ECL (chemiluminescent) để phát hiện.

ED_{50} được định nghĩa là nồng độ của proteaza làm mất 50% C3. Kết quả cho thấy sự mất mát gia tăng (tức là sự phân cắt) C3 khi có mặt các polypeptit u-PA đã được sửa đổi với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 8-14 và 16-20. Miền u-PA polypeptide proteaza có trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 8, được phân cắt bằng ED50 cao hơn vài lần so với các vùng khác. Kết quả được nêu trong bảng 15 dưới đây.

Bảng 15: Hoạt tính kháng C3 trong huyết tương của khỉ cynomolgus

Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO*	ED_{50} 80% huyết tương của cynomolgus (10 min, nM)
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	8	1700
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	9	176
F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	10	114
R35W/R36H/H37N/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H	11	309
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	12	286
F30Y/R35W/R36H/H37N/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	13	222
F30Y/R35W/R36H/H37P/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	14	145
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	16	481
F30Y/R35Y/R36H/H37P/R37aQ/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bH/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	17	215
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	18	244
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	19	214
R35W/H37D/R37aP/V38E/T39W/V41R/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	20	175

* SEQ ID của miền proteaza làm ví dụ chứa thay thế

Ví dụ 4

Hoạt tính kháng C3 của polypeptit u-PA biến đổi trong dịch thủy tinh khỉ cynomolgus

Hoạt tính của polypeptit u-PA biến đổi được đánh giá bằng sự phân cắt của protein bổ thể cơ chất của người C3. 2 μM người tinh khiết C3 (Công nghệ bổ sung; Tyler, TX) được ủ với polypeptit u-PA đã được sửa đổi (0 - 250 nM) trong 1 giờ ở 37°C trong dịch thủy tinh khỉ mua (BioChemed). Hoạt động của các polypeptit u-PA được sửa đổi sau đó bị dập tắt bằng cách bổ sung chất ức chế urokinase Glu-Gly-Arg Chlormethyl Ketone (EGR-CMK; Haematologic Technologies, EGRCK-01) đến nồng độ cuối cùng là 10 μM và hC3/hỗn hợp polypeptit u-PA biến đổi được để yên trong 30 phút ở nhiệt độ môi trường.

Mức độ còn lại của C3 ở người không được tiêu hóa được định lượng bằng cách sử dụng ELISA. Tất cả các polypeptit u-PA biến đổi, bao gồm cả những polypeptit chứa các chất thay thế R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R, Y40Q/V41L/L97bA/C122S và Y40Q/L97bA/C122S và Y40Q/V41R/L97bA/C122S, protein bổ thể C3 đã phân cắt với số vòng quay cao hơn (mỗi giờ) so với polypeptide u-PA tham chiếu có chứa chất thay thế C122S được nêu trong SEQ ID NO: 5. Kết quả được nêu ở bảng 16 dưới đây.

Bảng 16: Phân cắt C3 ở dịch thủy tinh

Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO*	Số luân chuyển C3 (hr^{-1})
u-P kiểu dại u-PA với C122S	5	0,3
V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	15	29
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	21	48
Y40Q/V41L/L97bA/C122S	40	8
Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	34	42
V38E/Y40Q/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	35	17

Bảng 16: Phân cắt C3 ở dịch thủy tinh		
Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO*	Số luân chuyển C3 (hr^{-1})
V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S	36	56
V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/H99Q/C122S	37	18
V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/C122S	38	12
R37aS/V41R/L97bG/H99Q/C122S	41	5
T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S	42	17
T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S	43	26
T39Y/V41R/D60aP/L97bA/H99Q/C122S	44	17

* SEQ ID của miền proteaza chứa thay thế

Ví dụ 5

Tính ổn định *ex vivo* của polypeptit u-PA biến đổi trong dịch thủy tinh khỉ cynomolgus

Tính ổn định *ex vivo* của polypeptit u-PA biến đổi được đánh giá trong dịch thủy tinh khỉ cynomolgus mua hoặc đối chứng Phosphate Buffered Saline (PBS). Các polypeptit u-PA đã biến đổi thể hiện sự ổn định trong dịch thủy tinh có thể được sử dụng để điều trị AMD.

80% dịch thủy tinh của cynomolgus (lấy từ BioChemed; Danh mục số BC7615-V1, BC60815-V1, BC33115-V6) trong dung dịch đệm chứa Tris 50 mM, pH 8,0, NaCl 50 mM, và Tween-20 0,01% hoặc đối chứng PBS được ủ với polypeptit u-PA đã biến đổi ở nồng độ cuối cùng là 0,1 µM. Các hỗn hợp này được ủ ở 37°C trong 7 ngày, và hoạt tính proteaza còn lại được thử nghiệm với 100 µM cơ chất tạo flogen AGR-ACC (7-amino-4-carbamoylmetyl-coumarin) trong Tris 50 mM, pH 8,0, NaCl 50 mM, Tween-20 0,01% (kết quả thử nghiệm được đánh giá ở bước sóng kích thích = 380 nm và bước sóng phát xạ = 460 nm). Kết quả thể hiện rằng polypeptit u-PA đã biến đổi với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 21-33 thể hiện hoạt tính tương đương trong huyết tương của cynomolgus và PBS. Kết quả được nêu trong bảng 17 dưới đây.

Bảng 17: Độ ổn định của polypeptit u-PA biến đổi trong dịch thủy tinh			
		Hoạt tính (%) ở ngày 7	
Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO*	dịch thủy tinh	PBS
miền proteaza u-PA kiểu dại với C122S	5	102	111
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	21	83	94
H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	22	73	79
R35Q/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	23	88	92
R35Q/H37Y/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	24	87	99
R35Q/H37Y/R37aE/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	25	105	103
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	26	93	108
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	27	88	100
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	28	93	97
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	29	58	61
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	30	86	92
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/H99Q/C122S/Y149R	31	90	111
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/C122S/Y149R	32	89	108
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S	33	74	99

* SEQ ID của miền proteaza làm ví dụ chứa thay thế

Sự ổn định *ex vivo* của biến thể u-PA kháng C3 ở bảng 18 dưới đây được đánh giá sau khi ủ trong dịch thủy tinh khỉ cynomolgus đã mua trong cả 7 và 28 ngày. Kết quả thể hiện một số biến thể duy trì hoạt động đáng kể ngay cả sau 28 ngày ủ bệnh. Kết quả được nêu trong bảng 18 dưới đây.

Bảng 18: Độ ổn định của polypeptit u-PA biến đổi trong dịch thủy tinh

		Hoạt tính (%)	
Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO*	Ngày 7	Ngày 28
u-PA kiểu dại với C122S	5	106	90
V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	15	43	n/d
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	21	83	34
Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	34	42	n/d
V38E/Y40Q/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S	35	28	n/d
V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S	36	17	n/d
V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/H99Q/C122S	37	73	n/d
V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/C122S	38	71	n/d
Y40Q/V41L/L97bA/C122S	40	56	28
R37aS/V41R/L97bG/H99Q/C122S	41	100	74
T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S	42	92	61
T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S	43	98	58
T39Y/V41R/D60aP/L97bA/H99Q/C122S	44	86	42

* SEQ ID của miền proteaza chứa thay thế

Ví dụ 6

Thử nghiệm *ex vivo* dược lực học trong huyết tương người

Các polypeptit u-PA biến đổi (vùng proteaza) được ủ với 80% huyết tương người trước khi bổ sung hồng cầu để đánh giá sự phân cắt của protein bổ thể C3 trong xét nghiệm tán huyết về hoạt tính của bổ thể. Thực hiện các xét nghiệm chức năng với sự có mặt của huyết tương người sẽ kiểm tra hoạt động của các proteaza kháng C3 trong môi trường dược dụng và, ví dụ, kiểm tra xem chúng có nhạy cảm với sự bất hoạt bởi serpin hoặc các chất ức chế proteaza khác có trong máu người hay không. Nói chung, polypeptit u-PA được sửa đổi được cung cấp trong bản mô tả này không bị ức chế khi có mặt trong huyết tương người. Điều này có ý nghĩa quan trọng đối với việc điều trị các bệnh và rối loạn và tình trạng, như DGF, trong đó các polypeptit u-PA được sửa đổi được sử dụng tiếp xúc với huyết tương người, như khi tiêm tĩnh mạch. Nó có tầm quan trọng thấp hơn hoặc không có tầm quan trọng đối với các ứng dụng, như điều trị AMD bằng cách tiêm vào cơ thể hoặc tiêm trong hoặc dưới màng não, nơi các polypeptit u-PA đã biến đổi không tiếp xúc với huyết tương.

Giá trị ED_{50}, là nồng độ của proteaza mà tại đó đạt được 50% sự ức chế hoạt động của bổ thể, được đo. Vùng proteaza u-PA kiểu dại (SEQ ID NO: 5, với C122S), và các vùng proteaza u-PA được sửa đổi ví dụ khác nhau được pha loãng lần lượt từ 3 µM đến 0,11 µM (độ pha loãng nối tiếp 9 điểm 1: 2) để đo ED_{50}. Vùng proteaza u-PA (SEQ ID NO: 5) kiểu dại và vùng proteaza u-PA biến đổi được ủ trước với nồng độ cuối cùng là 80% huyết tương trong một ống 0,2 mL bằng cách kết hợp 4 µL dung dịch proteaza pha loãng và 16 µL huyết tương người (với natri citrat làm chất chống đông máu; Nghiên cứu đổi mới, Inc.). Điều này dẫn đến việc pha loãng thêm proteaza để tạo ra nồng độ cuối cùng từ 0,6 µM đến 0,0022 µM proteaza cho giao thức ED_{50}. Đối chứng không chứa proteaza (18 µL huyết tương và 2 µL PBST) và đối chứng nền (chỉ 20 µL PBST) cũng được đưa vào các xét nghiệm. Phản ứng được ủ ở 37°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng thêm thành 20% huyết tương với việc bổ sung 70 µL PBST.

Hồng cầu cừu nhạy cảm (Diamdex, Miami, FL) được cô đặc đến 10X bằng cách tạo viên phân ước 3,0 ml, loại bỏ 2,7 mL dung dịch đệm và tạo huyền phù lại viên tế

bào trong 0,3 ml dung dịch đệm còn lại. Hồng cầu nhạy cảm đã cô đặc được bổ sung vào đĩa 96 giếng bằng polypropylen với thể tích 12 µL mỗi giếng. Hỗn hợp proteaza/huyết tương được ủ sơ bộ ở 6 µL hoặc 60 µL được bổ sung vào hồng cầu để tạo ra nồng độ cuối cùng lần lượt là 1% huyết tương hoặc 10% huyết tương, trong thể tích cuối cùng là 120 µL (PBST được bổ sung vào thể tích cuối cùng). Dung dịch được ủ với lắc ở nhiệt độ phòng trong 45 phút. Tế bào được quay xuống ở tốc độ 2000 vòng/phút trong 5 phút để tạo viên tế bào không bị vỡ, và 100 µL phần nổi bề mặt được loại bỏ và đặt trong đĩa vi lọc 96 giếng sạch.

Sự giải phóng hemoglobin từ các tế bào hồng cầu đã được phân giải được theo dõi bằng cách đọc mật độ quang học (OD) ở bước sóng 415 nm. Phân đoạn tán huyết được tính toán bằng cách trừ phần kiểm soát nền khỏi tất cả các lỗ, sau đó chia các mẫu thử nghiệm cho phần đối chứng không có proteaza (đối chứng dương tính), trong đó phần tỷ lệ tan máu của đối chứng dương tính được đặt là 1,00. ED_{50} (nM) của quá trình tán huyết bởi các proteaza được đo bằng cách vẽ biểu đồ phân đoạn tan máu so với nồng độ proteaza trên đường cong logistic 4 tham số phù hợp (phần mềm SoftMax Pro, Molecular Devices, CA).

Kết quả được thể hiện trong Bảng19 dưới đây, đưa ra ED_{50} (nM) cho sự tan máu trong 80% huyết tương người bởi u-PA kiểu dại với đột biến C122S được nêu trong SEQ ID NO: 5 và polypeptit u-PA đã được sửa đổi. Như được trình bày trong Bảng 19, ED50 đối với u-PA kiểu dại trong 80% huyết tương người lớn hơn 6 µM; trong khi polypeptit miền u-PA proteaza được sửa đổi được làm ví dụ đã tăng đáng kể khả năng ức chế bổ thể như được chỉ ra bởi ED_{50} thấp hơn (ví dụ, giữa 173 nM và 1,028 µM).

Bảng 19: Ức chế C3 ở huyết tương của người

Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO.*	ED_{50} 80% huyết tương của người (60 min, nM)
(miền proteaza) u-PA kiểu dại với C122S	5	> 6000
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	8	1028
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	9	257

Bảng 19: Ức chế C3 ở huyết tương của người		
Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO.*	ED_{50} 80% huyết tương của người (60 min, nM)
F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	10	195
R35W/R36H/H37N/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H	11	208
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	12	227
F30Y/R35W/R36H/H37N/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	13	220
F30Y/R35W/R36H/H37P/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	14	185
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	16	220
F30Y/R35Y/R36H/H37P/R37aQ/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bH/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	17	173
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	18	253
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	19	318
R35W/H37D/R37aP/V38E/T39W/V41R/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	20	196

* SEQ ID của miền proteaza làm ví dụ chứa thay thế

Ví dụ 7

Phân tích động học hoạt hóa plasminogen bằng cách sử dụng thử nghiệm sinh sắc tố gián tiếp

Thử nghiệm sinh sắc tố gián tiếp được thực hiện để xác định hoạt tính của polypeptit u-PA kiểu dại và biến đổi được tạo ra dưới dạng chế phẩm protein tinh khiết (xem, Madison *et al.* (1989) *Nature*, 339: 721-724; Madison *et al.* (1990) *J Biol. Chem.*,

265: 21423-21426). Trong thử nghiệm này, p-nitroanilin tự do được giải phóng khỏi cơ chất tạo màu Spectrozym PL (muối HD-norleucylhexahydrotyrosyl-lysin-p-nitroanilit diaxetat, American Diagnostics, Inc.) do hoạt tính của plasmin được tạo ra bởi hoạt tính của u-PA trên plasminogen. Sự giải phóng p-nitroanilin tự do được đo bằng phương pháp quang phổ ở bước sóng OD_{405} nm.

Đối với thử nghiệm, 100 µL hỗn hợp phản ứng chứa 0,25-1 ng enzym u-PA được thử nghiệm, 0,62 mM Spectrozyme PL và 0,2 µM Lys-plasminogen (American Diagnostics, Inc.), được kết hợp trong một dung dịch đệm chứa 50 mM Tris-HCL (pH 7,5), 0,1 M NaCl, 1,0 mM EDTA và 0,01% (v/v) Tween 80. Phản ứng được ủ ở 37°C trong các đĩa microtiter 96 giếng, đáy phẳng (Costar, Inc.) và mật độ quang học ở bước sóng 405 nm (OD405) được đọc cứ sau 30 s trong 1 giờ trong máy đo nhiệt độ thiết bị phân tử. Các hằng số động học k_{cat}, K_m và k_{cat}/K_m (hằng số đặc trưng) được tính toán (xem, ví dụ, Madison, *E. L* (1989) *Nature* 339: 721-724).

Kết quả được nêu trong Bảng 20 dưới đây. Kết quả cho thấy rằng các polypeptit u-PA được biến đổi đã làm giảm đáng kể hoạt tính của enzym đối với plasminogen cơ chất. Tất cả các polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này đều làm giảm hoạt tính và độ đặc hiệu đối với plasminogen; và tất cả đều có sự gia tăng nhiều lần về độ đặc hiệu và hoạt tính trên C3, và ức chế hoạt hóa bổ thể so với u-PA không được biến đổi.

Bảng 20: Phân tích động học của hoạt hóa plasminogen

Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO.*	k_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
u-PA kiểu dại với C122S	5	1,54E+04
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	8	4,03E+02
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K	9	<1,0E+01
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	12	<1,0E+01

Bảng 20: Phân tích động học của hoạt hóa plasminogen		
Đánh số chymotrypsin	SEQ ID NO.*	k_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	18	<1,0E+01
R35W/H37D/R37aP/V38E/T39W/V41R/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R	20	<1,0E+01
F30Y/R35Y/R36H/H37P/R37aQ/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bH/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K	17	<1,0E+01

* SEQ ID của miền proteaza làm ví dụ chứa thay thế

Ví dụ 8

Hoạt tính kháng C3 và sự ổn định của biến thể u-PA kháng C3 ở dịch thủy tinh của khỉ cynomolgus *in vivo*

Hoạt tính và sự ổn định của polypeptit u-PA biến đổi *in vivo* được nêu trong SEQ ID NO:21, là miền proteaza mà chứa thay thế R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R được đánh giá. Sự ổn định ở dịch thủy tinh và khả năng phân cắt C3 là các thông số cho thấy ứng cử viên để điều trị AMD.

Mười hai con khỉ cynomolgus nguyên vẹn được chỉ định vào một nhóm điều trị duy nhất. Động vật nghiên cứu được sử dụng trong cơ thể một liều duy nhất 125 µg polypeptide u-PA đã biến đổi vào một mắt. Miền proteaza cô lập có trình tự được quy định trong SEQ ID NO: 21, có trọng lượng phân tử khoảng 25 kDa, đã được sử dụng. Mắt phải nhận bài báo kiểm tra và mắt trái tiêm điều khiển phương tiện. Bốn con vật được hiến tế ở mỗi thời điểm sau: 24 giờ sau khi dùng liều, ngày thứ 2 và ngày thứ 6. Các mẫu dịch thủy tinh được thu thập từ mắt phải và mắt trái và được phân tích để xác định độ ổn định polypeptide u-PA và mức độ C3 sau khi điều trị bằng polypeptit u-PA sửa đổi hoặc điều khiển phương tiện; C3 và nồng độ polypeptit u-PA sửa đổi được xác định bằng ELISA như chi tiết ở trên.

Nồng độ của polypeptit u-PA biến đổi có trong mẫu dịch thủy tinh thu được sau liều 24 giờ, vào ngày 2 và ngày 6 được xác định bằng ELISA. Hoạt tính của polypeptit u-PA biến đổi sau đó bị dập tắt bằng cách bổ sung EGR-CMK (công nghệ Haematologic,

EGRCK-01) đến nồng độ cuối cùng là 10 µM và hỗn hợp polypeptit u-PA đã biến đổi/hC3 được để trong 30 phút ở nhiệt độ xung quanh.

Thời gian bán rã của polypeptit u-PA biến đổi của SEQ ID NO: 21 được xác định là khoảng 2 ngày, tương ứng với khoảng 5 ngày trong hệ thống của con người (Deng *et al*. MAbs 3(1): 61-66 (2011)). Phục hồi *in vivo* (tức là, mức đỉnh của polypeptit u-PA sửa đổi chia cho liều polypeptit u-PA đã sửa đổi) của polypeptit u-PA biến đổi (của SEQ ID NO: 21) được ELISA tính toán từ mức tối đa quan sát được của polypeptit u-PA biến đổi. Giá trị dự đoán trên lý thuyết cho khả năng thu hồi 100% *in vivo* là 2,5 µM. Sự phục hồi in vivo đo được của miền proteaza u-PA biến đổi (SEQ ID NO: 21) có chứa các thay thế:

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R được tính toán khoảng 80% giá trị dự đoán, hoặc khoảng 2,0 µM.

Mức C3 trong dịch thủy tinh được đánh giá bằng ELISA như chi tiết trong Ví dụ 3. Mức C3 trong mắt đối chứng âm tính được tiêm xe dao động trong khoảng 0,4 nM-50 nM (2 mẫu từ mắt được tiêm trong xe khác biệt đáng kể so với 10 mẫu còn lại, có thể là do máu sự nhiễm bẩn của dịch thủy tinh). Mức cơ bản của C3 trước khi sử dụng u-PA là khoảng 2,2 nM. C3 không được phát hiện ở mắt được điều trị biến thể sau 1 ngày và 7 ngày. Sau 28 ngày, nồng độ C3 trong mắt được điều trị bằng polypeptit u-PA biến đổi với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 21 là khoảng 2,2 nM, tương đương với mức trước khi điều trị. Do đó, polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này là ứng cử viên để điều trị AMD.

Ví dụ 9

Đột biến làm ví dụ trong u-PA và xác nhận các vị trí phân cắt

Các vị trí và đột biến làm ví dụ trong polypeptit u-PA, bao gồm miền có chiều dài đầy đủ, tiền chất và proteaza và phần có hoạt tính xúc tác của chúng được nêu trong bảng 22 (dưới đây).

Bảng 22: Đột biến làm ví dụ trong u-PA					
Đánh số Chymo	Đánh số trưởng thành	wt	Đột biến trong polypeptit của SEQ ID NO:21	Đột biến làm ví dụ	Bảo toàn với đột biến
30	173	F		Y,	W, F
35	178	R	Q	Q, W, Y	Y, W, F, N
36	179	R		H	N, Q
37	180	H	Y	Y, E, P D, N, G, K, Y	D, E, Q, H, P, R, Q, E, W, F
37a	181	R	E	E, P, Q, N	D, Q, H
38	185	V	E	E	
39	186	T	Y	W, Y, F	M, L
40	187	Y		Q, F	M, L, Y, N, Q
41	188	V	R	R, L	K
60a	208	D	P	P	S
60b	209	Y	Q	L, Q, S, A, Y, T	N, T, G, S, I, V, Q
97a	249	T	I	E, I,	D, L, V
97b	250	L	A	A, G	G, S
99	252	H	Q	Q	N
149	306	Y	R	K, R	Q, E
157	314	M		K	R, Q, E
192	353	Q		H	N, Q

Thay thế ở dạng bất kỳ của u-PA, bao gồm miền proteaza (SEQ ID NO: 2 hoặc 5); chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 1 hoặc 4) và dạng trưởng thành (SEQ ID NO: 3 hoặc 6). Thay thế có thể được kết hợp, bao gồm như được lấy ví dụ trong bản mô tả này, bao gồm tối đa 15-18 thay thế hoặc nhiều hơn.

Dữ liệu thể hiện rằng các polypeptit u-pA được biến đổi với những đột biến này, phân cắt và làm bất hoạt C3 ở nhiều loài như người và khỉ cynomolgus. Sự phân cắt C3 của người có thể nằm trong khoảng từ 740 đến 741 (SEQ ID NO: 47), và sự phân cắt này làm bất hoạt C3:

Q H A R ↓ A S H L 737-744

P4 P3 P1 ↓P1' P4'.

Như đã trình bày ở trên, và trong toàn bộ sáng chế, polypeptit u-PA được biến đổi sẽ phân cắt và làm bất hoạt C3. Các polypeptit u-PA biến đổi đã được chọn để phân cắt trong vùng này, và nó đã được xác nhận bằng cách thử nghiệm chúng. Ví dụ: C3 được ủ với miền u-PA proteaza biến đổi (SEQ ID NO: 21) có chứa các chất thay thế: R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R hoặc với miền u-PA proteaza được sửa đổi (SEQ ID NO: 40) với các chất thay thế Y40Q/V41L/L97bA/C122S ở tỷ lệ enzyme và cơ chất là 1:10 hoặc 1:50 trong tổng thời gian một giờ. Các mẫu được loại bỏ khỏi các phản ứng này ở 0, 5, 10, 20, 40 và 60 phút, và phản ứng phân cắt được kết thúc ngay lập tức trong mỗi mẫu bằng cách bổ sung TFA và làm đông nhanh trong đá khô. Trước khi phân tích thêm các mẫu này, chuỗi bên xystein bị khử và bị alkyl hóa, nhóm ε-amino của chuỗi bên lysine bị chặn lại bằng cách xử lý với O-methylisourea, và peptide amino termini sau đó được dán nhãn NHS - SS – biotin. Các peptit C3 được đánh dấu biotin thu được được bắt giữ và tiếp tục tiêu hóa bằng trypsin và GluC proteaza. Sau quá trình phân hủy proteaza thứ hai này, các sản phẩm peptide một lần nữa được bắt giữ lại ái lực. Biotin sau đó được loại bỏ khỏi các peptit bị bắt bằng cách khử, và hỗn hợp peptit được phân tích bằng LC-MS/MS. Tại mỗi thời điểm sau 0 phút, một đoạn MW 8289 được quan sát thấy, cho thấy sự phân cắt ở arginine trong vị trí QHAR ở C3. Không có vị trí phân cắt C3 bổ sung nào được quan sát thấy trong các phản ứng này. Do đó, các polypeptit u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này phân cắt ở QHAR.

Q H A R ↓ A S H L 737-744

P4 P3P2 P1↓P1' P4'.

Ví dụ 10

Độc tính u-PA trong dịch thủy tinh của khỉ cynomolgus

Độ an toàn và khả năng dung nạp của các polypeptit u-PA biến đổi đã được đánh giá in vivo ở khỉ cynomolgus. Ba con khỉ cynomolgus nguyên vẹn được chỉ định cho mỗi nhóm trong ba nhóm điều trị. Động vật nghiên cứu được tiêm trong cơ thể 12,5 µg, 37,5 µg hoặc 125 µg mỗi mắt, của mỗi polypeptit u-PA đã được biến đổi. Mắt phải nhận polypeptide thử nghiệm và mắt trái được tiêm thuốc điều khiển phương tiện. Động vật được quan sát lâm sàng (tức là tiêu thụ thức ăn) và kiểm tra nhãn khoa đã được tiến hành. Kiểm tra nhãn khoa bao gồm soi sinh học bằng đèn khe và quan sát ống soi đáy mắt gián tiếp, tiếp theo là chụp ảnh quỹ đạo màu hoặc chụp cắt lớp liên kết quang học (OCT) trước khi dùng thuốc (T = 0) và vào các ngày 2, 8 và 15 sau khi dùng thuốc. Tất cả các quan sát tiếp tục cho đến 4 tuần hoặc cho đến khi giải quyết xong.

Mức độ tác dụng phụ không quan sát được (NOAEL) được đánh giá cho tất cả các động vật. NOAEL cho động vật sử dụng polypeptit u-PA biến đổi với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 42 là ≥37,5 µg. Không có tác dụng phụ nào được ghi nhận đối với động vật được sử dụng polypeptit u-PA biến đổi với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 21; do đó, NOAEL cho động vật sử dụng polypeptit u-PA biến đổi với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 21 là ≥125 µg (tương đương với ≥375 µg/mắt ở người).

Ví dụ 11

Các phép tính đã được thực hiện để xác định các điểm nóng sinh miễn dịch ứng cử viên trong u-PA kiểu dại, một biến thể C122S của vùng proteaza u-PA (SEQ ID NO: 5) kiểu dại và vùng proteaza biến thể u-PA mẫu để xác nhận rằng các đột biến trong các biến thể mẫu không giới thiệu bất kỳ điểm nóng sinh miễn dịch nào. Các phép tính cũng được thực hiện để so sánh cấu hình tổng thể của các điểm nóng cho các biến thể quan tâm với một bảng các protein so sánh.

Tổng quan về phương pháp

Bước quan trọng trong đáp ứng của tế bào T đối với protein lạ là sự liên kết và trình diện của peptit cấu thành (có nguồn gốc từ sự phân cắt của protein lạ) với bất kỳ trong số các phức hợp HLA được biểu hiện trong tế bào trình diện kháng nguyên. Việc xác định peptit, có nguồn gốc từ protein, được dự đoán là liên kết với HLA đã biết có

thể được sử dụng như dấu hiệu của điểm nóng có thể có trong trình tự để tạo ra đáp ứng tế bào T. Khi xem xét biến thể của protein có đặc tính sinh miễn dịch đã biết, việc so sánh profin của chất kết dính HLA được dự đoán có thể giúp xác định liệu thay đổi có tạo ra điểm nóng sinh miễn dịch mới bất kỳ hay không.

Profin có thể được tạo bằng cách sử dụng các cơ sở dữ liệu có sẵn công khai. Ví dụ, dịch vụ dự đoán ràng buộc có sẵn công khai (NetMHCII 2.2server), Đại học Kỹ thuật Đan Mạch, đã được sử dụng để dự đoán ràng buộc với HLA. Máy chủ NetMHCII 2.3 dự đoán liên kết các peptit với các alen HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP và MHC lớp II của chuột bằng cách sử dụng mạng nơron nhân tạo. Các dự đoán có thể thu được đối với 25 alen HLA-DR, 20 HLA-DQ, 9 HLA-DP và 7 alen H2 lớp II của chuột. Các giá trị dự đoán được đưa ra theo giá trị nM IC50 và dưới dạng% -Rank vào tập hợp 1.000,000 peptit tự nhiên ngẫu nhiên. Các peptit liên kết mạnh và yếu được chỉ ra ở đầu ra.

Dịch vụ được sử dụng để dự đoán ái lực liên kết của tất cả các peptit có thể có của 15 axit amin liền kề trong các biến thể làm ví dụ (SEQ ID NO: 40 và SEQ ID NO: 21), miền proteaza kiểu dại (SEQ ID NO: 2), và miền proteaza kiểu dại với C122S (SEQ ID NO: 5) so với bảng gồm 14 biến thể HLA-DR (xem Bảng B, bên dưới) dựa trên trình tự chính của peptit. Đối với mỗi cặp peptide/HLA, máy chủ NetMHCII cung cấp ái lực liên kết dự đoán, cũng như phân loại là chất kết dính chặt chẽ ($K_d \leq 500$), chất kết dính yếu $K_d \leq 50$ nM) hoặc không phải là chất kết dính ($K_d > 500$ nM). Đối với trình tự protein chứa N axit amin, điều này dẫn đến tổng số T = (N- 14) x 14 cặp liên kết peptit — HLA có thể có.

Sử dụng dự đoán liên kết từ máy chủ NetMHCII, kết quả được sử dụng để xác định các điểm nóng có thể có trong các chuỗi protein này, dựa trên các khu vực nơi một số cặp liên kết ứng viên đã được xác định. Những thay đổi này được so sánh với thay đổi đã biết trong trình tự protein tương ứng.

Đối với mỗi protein, điểm số liên kết tổng thể dựa trên số lượng cặp peptit-HLA liên kết chặt (TB) dự đoán, số lượng cặp peptit-HLA liên kết yếu dự đoán (WB) và tổng số cặp peptit-HLA được xem xét (T) như:

Điểm số = (TB + 0,5 * WB)/T

Bảng B - Phân tử HLA-DR được bao gồm như đoạn liên kết có thể

HLA-DRB1*1101

HLA-DRB1*0101

HLA-DRB1*0301

HLA-DRB1*0401

HLA-DRB1*0404

HLA-DRB1*0405

HLA-DRB1*0701

HLA-DRB1*0802

HLA-DRB1*0901

HLA-DRB1*1302

HLA-DRB1*1501

HLA-DRB3*0101

HLA-DRB4*0101

HLA-DRB5*0101

Điểm số này đã thể hiện sự phù hợp tốt với các dự đoán về tính sinh miễn dịch trong silico được tạo ra bởi công ty EpiVax (Providence, RI), sử dụng kỹ thuật tin học miễn dịch và *in vitro* để dự đoán tính sinh miễn dịch, khi sử dụng một tập hợp con gồm 8 HLA. Tập hợp con 8 HLA này đã được sử dụng. Các phép tính tương tự cũng được thực hiện trên một bảng các protein tiêu chuẩn để cung cấp bộ so sánh để so sánh các biến thể u-PA.

Tác động của đột biến đối với profin liên kết HLA được dự đoán

Số lần vị trí trình tự nhất định cho bất kỳ miền u-PA proteaza biến thể nào được ánh xạ cho mỗi phức hợp HLA ở ngưỡng K_d là 50 nM và 500 nM. Thang điểm trong mỗi cột là cố định, nhưng có sự khác biệt giữa các cột và được so sánh với các polypeptit kiểu dại để đánh giá xem liệu các đột biến có làm thay đổi cấu hình sinh miễn dịch hay không. Không có sự khác biệt đáng kể giữa các polypeptit quan sát được.

Điểm sinh miễn dịch kết tụ

Để tính điểm tổng hợp về khả năng sinh miễn dịch cho mỗi trình tự, tổng số cặp liên kết peptit—HLA ở mỗi ngưỡng liên kết trên một bảng gồm 8 HLA (Bảng C) đã được EpiVax (Providence, RI) xác nhận trước đó để đưa ra sự đồng thuận tốt với được công bố trên điểm số sinh miễn dịch silico. EpiVax là công ty sử dụng kỹ thuật tin học miễn dịch và kỹ thuật *in vitro* để dự đoán khả năng sinh miễn dịch. Các giá trị này sau đó được sử dụng để tính điểm tổng thể như được mô tả trong phần tóm tắt phương pháp ở trên.

Bảng C- Tập hợp con HLA-DR được sử dụng cho điểm sinh miễn dịch tổng thể

HLA-DRB1*0101

HLA-DRB1*0301

HLA-DRB1*0401

HLA-DRB1*0701

HLA-DRB1*0802

HLA-DRB1*1101

HLA-DRB1*1302

HLA-DRB1*1501

Số cặp liên kết peptit — HLA cho tập hợp con 8 HLA và điểm tổng hợp cho uPA được thể hiện bên dưới:

ID trình tự	# chặt (*TB*)	# yếu (*WB*)	Tổng có thể (*T*)	Điểm
2 (WT)	98	526	1888	.191
5 (WTS)	109	542	1888	.201
40	107	528	1912	.194
21	96	514	1912	.185

Kết quả chỉ ra rằng khả năng sinh miễn dịch của các biến thể không khác với các polypeptit kiểu dại. Kết quả của phân tích tương tự cho một bảng các protein so sánh được hiển thị bên dưới:

Trình tự	# chặt (*TB*)	# yếu (*WB*)	Tổng có thể (*T*)	Điểm
Follitropin-Beta	13	120	920	.079
Fibrinogen-Alpha	125	582	5040	.083

Insulin	32	107	768	.111
Albumin	192	743	4760	.118
Amylaza	210	711	3976	.142
Thrombopoietin	266	609	2712	.210
Interferon-Beta	175	353	1384	.254
Interleukin-11	233	316	1480	.264

Ví dụ 12

Hoạt hóa plasminogen bằng wt- và polypeptit u-PA biến thể

Hiệu quả xúc tác để hoạt hóa Glu-plasminogen bằng các biến thể wt- và kháng C3 của polypeptit u-PA được đề xuất trong bản mô tả này đã được thử nghiệm như mô tả bên dưới. Dữ liệu từ các thí nghiệm này đã chứng minh rằng các protein biến thể u-PA kháng C3 cho thấy hoạt động giảm đáng kể đối với plasminogen, một cơ chất có liên quan về mặt sinh lý của loại u-PA hoang dã. Kết hợp với dữ liệu từ Ví dụ 7, những dữ liệu này chứng minh rằng polypeptit kháng C3 u-PA không chỉ hiển thị hoạt tính cao hơn đáng kể đối với cơ chất "mới", C3, mà còn làm giảm đáng kể hoạt tính đối với cơ chất sinh lý bình thường của wt u-PA.

Do đó, các đột biến được đưa vào các biến thể kháng C3 được mô tả trong bản mô tả này đã làm thay đổi đáng kể độ đặc hiệu cơ chất của polypeptit biến thể kháng C3 so với của wt-u-PA.

Hoạt hóa plasminogen bởi polypeptit u-PA biến thể wt- và kháng C3

1) Phân tích bằng phản ứng điểm thời gian duy nhất (37 C trong 30 phút)

a) Điều kiện phản ứng

Hoạt tính hoạt hóa plasminogen được đo đối với u-PA/C122S kiểu dại (SEQ ID NO:5) cũng như biến thể polypeptit u-PA kháng C3 chứa đột biến Y40Q/V41L/L97bA/C122S (SEQ ID NO:40) và R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R (SEQ ID NO:21). Nồng độ proteaza trong hỗn hợp phản ứng là 25 nM (wt-u=PA) hoặc 250 nM (biến thể u-PA kháng C3) và nồng độ cơ chất (tức là Glu-plasminogen) là 2,5 uM. Thể tích phản ứng là 20 uL và phản ứng tiến hành trong 30 phút ở 37°C. Mỗi

phản ứng được kết thúc bằng cách thêm 2 uL 1 M DTT và 7 uL dung dịch đệm mẫu 4X, và gia nhiệt đến 80°C trong 45 s. Hỗn hợp phản ứng đã kết thúc được nạp vào giếng riêng lẻ bằng gel BIS-TRIS 4 - 12% và chạy trong dung dịch đệm XT MES ở 200 V trong 45 phút và sau đó được nhuộm bằng SimplyBlue SafeStain.

b) Đo sản phẩm phản ứng (tức là plasmin)

Phân tích gel SDS nhuộm màu chỉ ra rằng wt u-PA phân cắt tất cả plasminogen có trong phản ứng, chuyển nó thành plasmin hai chuỗi, hoạt tính trong thời gian ủ 30 phút. Ngược lại, hoạt động của biến thể u-PA Y40Q/V41L/L97bA/C122S (seq ID 40) trong phản ứng này thấp hơn đáng kể so với hoạt động của wt-u-PA trong khi không quan sát thấy sự hoạt hóa plasminogen ở biến thể u-PA R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R trong phản ứng này.

2) Động học của sự hoạt hóa Glu-Plasminogen bằng polypeptit u-PA kháng C3

Phân tích động học về sự hoạt hóa Glu-plasminogen bởi polypeptit biến thể uPA wt- hoặc kháng C3 được thực hiện như mô tả dưới đây. Phản ứng hoạt hóa được thực hiện ở 37°C trong dung dịch đệm I = 0,16 M Hepes/NaCl/EDTA chứa 0,1% BSA. Các polypeptit U-PA có mặt ở nồng độ 1 (wt) hoặc 10 (biến thể) nM. Hằng số tốc độ bậc hai (kcat/KM) được suy ra từ mối quan hệ tuyến tính phù hợp của vận tốc phản ứng ban đầu cho quá trình thủy phân (bởi plasmin sản phẩm phản ứng) của cơ chất tạo màu S-2251 (HD-Val-Leu-Lys-pNA · 2HCl) so với nồng độ Glu-plasminogen (tức là cơ chất u-PA) (0 - 4 μM). Xem thêm Bảng 24.

SEQ ID NO.	Đột biến	k_{cat}/K_M ($M^{-1}s^{-1}$)	± S.D.	% CV	n =	Tỷ lệ với WT
5	C122S (WT)	2,28E+04	2,62E+03	11,5%	4	1
423	V38D/L97bA/H99Q/C122S	1,38E+03	1,79E+02	12,9%	4	17
8	F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K	4,59E+02	6,42E+01	14,0%	4	50

SEQ ID NO.	Đột biến	k_{cat}/K_M ($M^{-1}s^{-1}$)	± S.D.	% CV	n =	Tỷ lệ với WT
254b*	C[4]S/F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bH/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192A	9,91E-01	1,88E+00	190,0%	4	23034

Đột biến C4S không có trong miền proteaza

So sánh giữa 15 biến thể thể hiện kết quả trong Bảng 24 được đính kèm bên dưới có nhãn "Hoạt hóa Glu-Plasminogen bằng các Biến thể kháng C3 u-PA."

Đối với bảng 24:

Glu-plasminogen được hoạt hóa bởi C122S uPA hoặc các biến thể uPA chọn lọc ở nồng độ proteaza 1 nM hoặc 10 nM proteaza

Các phản ứng được thực hiện ở 37°C trong dung dịch đệm I = 0,16 M Hepes/NaCl/EDTA chứa 0,1% BSA

Hằng số tốc độ bậc hai (kcat/KM) được suy ra từ mối quan hệ tuyến tính phù hợp của vận tốc phản ứng ban đầu để thủy phân cơ chất tạo màu S-2251 (HD-Val-Leu-Lys-pNA · 2HCl) so với Glu-plasminogen nồng độ (0 - 4 μM).

Ví dụ 13

Ví dụ về đột biến miền u-PA Proteaza Sự phân cắt của protein bổ thể C3 trong dịch thủy tinh của khỉ Cynomolgus

Thể đột biến làm ví dụ được thể hiện trong bảng 23 dưới đây có tham chiếu đến miền proteaza u-PA WT được nêu trong SEQ ID NO: 5. Tế bào bóng mờ chỉ ra rằng polypeptit u-PA biến đổi bị đột biến ở gốc này khi so sánh với polypeptit u-PA tham chiếu nêu trong SEQ ID NO: 5. Tế bào không bóng mờ chỉ ra rằng polypeptit u-PA biến đổi chứa axit amin giống như polypeptit u-PA tham chiếu được nêu trong SEQ ID NO: 5. Hoạt tính của polypeptit u-PA đã biến đổi được xác định bằng cách phân cắt protein bổ thể cơ chất C3 như được trình bày chi tiết và được biểu diễn trong ví dụ 2 và được biểu diễn dưới dạng mức còn lại của C3 (nM) sau khi xử lý u-PA. Sự phân cắt C3 bằng polypeptit u-PA đã biến đổi được thực hiện trong thủy tinh thể của khỉ cynomolgus đã mua hoặc đối chứng nước muối đệm photphat (PBS) như được trình bày chi tiết trong ví dụ 3. Kết quả nêu trong bảng 23, dưới đây, thể hiện rằng polypeptit u-PA đã biến đổi

thể hiện hoạt tính chống lại C3 lớn hơn so với miền u-PA proteaza tham chiếu, có trình tự được nêu trong SEQ ID NO:5. % hoạt tính của thủy tinh thể và PBS thể hiện phần trăm hoạt tính còn lại sau 7 ngày. Polypeptit u-PA biến đổi tương đối ổn định so với miền proteaza kiểu dại tham chiếu của SEQ ID NO:5, với một số thể hiện tính ổn định hơn các vùng khác. Các ứng viên trị liệu, bao gồm trong bảng dưới đây, là có hoạt tính phân cắt C3 cao và ổn định hơn, cụ thể là dịch thủy tinh.

Bảng 23: Tính chất làm ví dụ của polypeptit u-PA biến đổi

	Đột biến bởi đánh số chymotrypsin														Hoạt tính C3 (%) ở ngày 7	
SEQ ID NO.*:	R35	H37	R37a	V38	T39	V41	D60a	Y60b	T97a	L97b	H99	C122	Y149	phân cắt hC3 (nM)	Dịch thủy tinh	PBS
5	R	H	R	V	T	V	D	Y	T	L	H	S	Y	3380	102	111
21	Q	Y	E	E	Y	R	P	Q	I	A	Q	S	R	19	83	94
22	R	Y	E	E	Y	R	P	Q	I	A	Q	S	R	51	73	79
23	Q	H	E	E	Y	R	P	Q	I	A	Q	S	R	46	88	92
24	Q	Y	R	E	Y	R	P	Q	I	A	Q	S	R	6	87	99
25	Q	Y	E	V	Y	R	P	Q	I	A	Q	S	R	10	105	103
26	Q	Y	E	E	T	R	P	Q	I	A	Q	S	R	161	93	108
27	Q	Y	E	E	Y	V	P	Q	I	A	Q	S	R	519	88	100
28	Q	Y	E	E	Y	R	D	Q	I	A	Q	S	R	30	93	97
29	Q	Y	E	E	Y	R	P	Y	I	A	Q	S	R	11	58	61

30	Q	Y	E	E	Y	R	P	Q	T	A	Q	S	R	25	86	92
31	Q	Y	E	E	Y	R	P	Q	I	L	Q	S	R	155	90	111
32	Q	Y	E	E	Y	R	P	Q	I	A	H	S	R	92	89	108
33	Q	Y	E	E	Y	R	P	Q	I	A	Q	S	Y	9	74	99

* SEQ ID của miền proteaza chứa thay thế

Trong số các thứ khác, dữ liệu này và dữ liệu khác cho thấy rằng:

R35Q: đột biến này làm tăng hoạt tính kháng C3 nội tại (tức là trong chất đệm) lên khoảng 2,7 lần và khoảng 4,3 lần khi có mặt 80% huyết tương người

H37Y: đột biến này làm tăng hoạt tính kháng C3 lên khoảng 2,4-2,5 lần trong chất đệm và với sự hiện diện của 80% huyết tương người

R37aE: đột biến này làm giảm hoạt tính kháng C3 nội tại khoảng 3,2 lần; tuy nhiên, với sự hiện diện của 80% huyết tương người, nó không ảnh hưởng đến hoạt động chống C3

V38E: đột biến này đã cải thiện tính ổn định của protein trong dịch đệm và thủy tinh thể và cải thiện hoạt tính chống C3 trong huyết tương của 80% người lên ~ 1,5 lần

T39Y: Đột biến này làm tăng hoạt tính kháng C3 nội tại và hoạt tính chống C3 trong huyết tương của 80% người lên khoảng 7,5-8,5 lần

V41R: Đột biến này làm tăng hoạt tính kháng C3 nội tại và hoạt tính kháng C3 trong huyết tương của 80% người lên khoảng 25 - 27 lần

D60aP: Đột biến này làm tăng hoạt tính kháng C3 nội tại và hoạt tính kháng C3 trong huyết tương 80% người lên khoảng 1,2 -1,6 lần

Y60bQ: Đột biến này làm giảm hoạt tính kháng C3 nội tại khoảng 1,7 lần và giảm độ ổn định của protein trong thủy tinh thể sau khi ủ 7 ngày ở 37°C khoảng 1,4 lần; nhưng với sự hiện diện của 80% huyết tương người, nó làm tăng hoạt tính kháng C3 lên khoảng 1,1 lần

T97aI: Đột biến này làm tăng hoạt tính kháng C3 nội tại và hoạt tính kháng C3 khi có mặt 80% huyết tương của người lên khoảng 1,2 - 1,3 lần

L97bA: Đột biến này làm tăng hoạt tính kháng C3 lên khoảng 6,4 - 8,2 lần trong chất đệm và 80% trong huyết tương người

H99Q: Đột biến này làm tăng hoạt tính kháng C3 lên khoảng 2,9 - 4,8 lần trong chất đệm và 80% huyết tương người

Y149R: Đột biến này làm giảm hoạt tính kháng C3 khoảng 1,6 - 2,1 lần trong bộ đệm và 80% huyết tương người.

Kết quả tương tự cũng đạt được đối với sự thay thế trong polypeptit u-PA được sửa đổi tải đột biến thấp hơn chứa: I41D/C122S/G151N/Q192T (ví dụ: xem polypeptit u-PA biến đổi có trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 40, và cũng có độ dài đầy đủ và dạng tiền thân và dạng trưởng thành có chứa các dạng thay thế này).

Dữ liệu chỉ ra rằng u-PA được sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này phân cắt và làm bất hoạt C3 ở nhiều loài khác nhau. Ví dụ, sự phân cắt C3 của người để bất hoạt nó có thể giữa các gốc 740 và 741 (SEQ ID NO: 47):

Q H A R ↓ A S H L 737-744

P4 P3 P1 ↓ P1' P4'.

Ví dụ 14

Nhân dòng, biểu hiện và điều chế protein dung hợp u-PA- Albumin huyết thanh của người (HSA)

A. Nhân dòng của polypeptit dung hợp u-PA-HAS

Cấu trúc để biểu hiện protein dung hợp u-PA-HSA được tạo ra (SEQ ID NO:1015). Mảnh u-PA-trình tự liên kết-HSA được lắp ráp từ oligonucleotit tổng hợp và/hoặc sản phẩm PCR và được nhân dòng vào vectơ pcDNA3.4-TOPO (Invitrogen; Cat. No. A14697) để biểu hiện trong kiểm soát của trình tự khởi động/trình tự tăng cường sớm ngay lập tức cytomegalovirut (CMV) của người hoặc vectơ biểu hiện độc quyền (Lake Pharma). Trình tự tín hiệu tiết (SEQ ID NO:999 (METDTLLLWVLLLWVPGSTG)) được nhân ngược dòng lên miền đầu tận N u-PA (axit amin 1-158 của SEQ ID NO: 3), và miền proteaza u-PA biến đổi làm ví dụ (được nêu trong SEQ ID NO:987) và được liên kết qua trình tự liên kết (SEQ ID NO: 1002 (GGSSGG)) với vùng mã hóa của albumin huyết thanh của người (HSA; SEQ ID NO: 991):

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKT
CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQ
HKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFF
AKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGER
AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADL
AKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKD
VCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAAD
PHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV
STPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVS
DRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKL
VAASQAALGL.

Cấu trúc bao gồm peptit tín hiệu (axit amin 1-20), vùng đầu tận N u-PA, vùng protease được sửa đổi của SEQ ID NO: 21, ngoại trừ C ở vị trí 122 (được nêu trong SEQ ID NO: 987), trình liên kết GS (GGSSGG, SEQ ID NO: 1002) theo sau là vùng mã hóa HSA. Trình tự cấu tạo hoàn chỉnh, được nêu trong SEQ ID NO: 1015, là:

METDTLLLWVLLLWVPGSTGSNELHQVPSNCDCLNGGTCVSNKYFSNIHWCN
CPKKFGGQHCEIDKSKTCYEGNGHFYRGKASTDTMGRPCLPWNSATVLQQTY
HAHRSDALQLGLGKHNYCRNPDNRRRPWCYVQVGLKPLVQECMVHDCADG
KKPSSPPEELKFQCGQKTLRPRFK**IIG**GEFTTIENQPWFAAIYQRYEGGSEYYR
CGGSLISPCWVISATHCFIPQPKKEDYIVYLGRSRLNSNTQGEMKFEVENLILH
KDYSADIAAQHNDIALLKIRSKEGRCAQPSRTIQTI**C**LPSMYNDPQFGTSCEITG
FGKENSTDRLYPEQLKMTVVKLISHRECQQPHYYGSEVTTKMLCAADPQWKT
DSCQGDSGGPLVCSLQGRMTLTGIVSWGRGCALKDKPGVYTRVSHFLPWIRS
HTKEENGLAL**GGSSGG**DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPF
EDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMA
DCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLY
EIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASS
AKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTEC
CHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEM
PADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLA
KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKF

QNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSV
VLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFT
FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCK
ADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL.

B. Điều chế polypeptit dung hợp u-PA-HSA

1. Sự biến đổi và sự biểu hiện của các polypeptit dung hợp u-PA-HSA

ADN mã hóa polypeptit dung hợp u-PA-HSA biến đổi được nhân dòng vào vectơ biểu hiện pcDNA3_4 (Thermo Fisher) hoặc vectơ độc quyền (Lake Pharma)-đầu cuối C cho chuỗi tín hiệu tiết như chi tiết trong Phần A. U-PA-HSA sửa đổi các protein dung hợp sau đó được biểu hiện trong một thể tích 1 L môi trường biểu hiện trong 6 ngày trong các tế bào biểu hiện HEK expi293 hoặc expiCHO tại ThermoFisher hoặc dòng tế bào TunaCHO™ độc quyền tại Lake Pharma.

2. Tinh chế ái lực của các polypeptit kết hợp u-PA-HSA

Dạng tiền enzym của protein dung hợp u-PA-HSA biến đổi đã được tinh chế bằng cách sử dụng hệ thống được bán dưới dạng hệ thống Ma trận ái lực CaptureSelect ™ Human Albumin (ThermoFisher Scientific; Cat. 19129701L hoặc 19127005) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Cột được chuẩn bị bằng cách thêm khoảng 10 mL nhựa Ma trận ái lực CaptureSelect™ (ThermoFisher) vào cột. Sau khi dung dịch lưu trữ được phép chảy qua cột, 10 thể tích cột (CV) của PBS (137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 10 mM Na2HPO4, 2 mM KH2PO4, pH 7,4) được thêm vào để rửa nhựa. Tiếp theo, các thu hoạch biểu hiện có chứa các protein dung hợp u-PA-HSA được đưa vào cột và sau đó được rửa sạch với 5-10 CV PBS. Các protein dung hợp u-PA-HSA liên kết được rửa giải bằng dung dịch đệm rửa giải 10 CV (20 mM Tris, 2 M MgCl2, pH 7,0). Cột này sau đó được tách với 10 CV của glycine (0,2 M, pH 3,0) và được trung hòa bằng Tris-HCl 10% (1,5 M, pH 7,4) và cân bằng lại trong PBS. Các mẫu của dòng chảy qua và các bước rửa giải được thu thập và phân tích trên điện di trên gel SDS PAGE đã giảm và không giảm để đánh giá độ tinh khiết của mẫu. Các protein dung hợp u-PA-HSA được thẩm tách trong 16 giờ thành PBS ở 4°C.

3. Hoạt hóa plasmin polypeptit dung hợp u-PA-HSA biến đổi

Plasmin phân cắt có chọn lọc một liên kết đơn trong các polypeptit dung hợp u-PA kiểu dại và các polypeptit dung hợp u-PA khác có trình tự hoạt hóa u-PA kiểu dại để hoạt hóa tiền enzym u-PA-HSA và tạo thành một chuỗi hai u-PA-HSA protein dung hợp, được liên kết qua disulfua với miền protease hoạt động ở đầu C được gắn với miền u-PA ở đầu N bằng liên kết disulfua. Đối với các thí nghiệm này, cấu trúc được sử dụng có trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1015, chứa polypeptit u-PA được sửa đổi của SEQ ID NO: 21, ngoại trừ C122S, bằng cách đánh số chymotrypsin, là C122C để cung cấp cystein tự do, và chuỗi tín hiệu (phần dư 1-20 của SEQ ID NO: 1015) không được bao gồm. Sau khi hoạt hóa, sản phẩm tạo thành có hai chuỗi (tham chiếu đến SEQ ID NO: 1015): chuỗi A có dư lượng 21-178 và chuỗi B có dư lượng 179-1022, u-PA (dư lượng 179-431), trình liên kết (dư lượng 432-437) và HSA (dư lượng 438-1022). Chuỗi A và B được liên kết bằng liên kết disulfua giữa C168 và C299 (tương ứng với C122 bằng cách đánh số chymotrypsin).

Miền HSA vẫn được liên hợp thông qua trình liên kết GGSSGG với đầu cuối C của miền protease. Quá trình hoạt hóa tuân theo quy trình sau: hỗn hợp nhựa plasmin-agarose (Molecular Innovations; Cat. No. HPL-1) được chuẩn bị bằng cách rửa nhựa với 1x PBS, 3 lần. Sau đó, 200 µL bùn nhựa trong 1x PBS trên mỗi miligam polypeptit tổng hợp u-PA được thêm vào dung dịch chứa polypeptit tổng hợp u-PA-HSA đã thẩm tách trong PBS. Quá trình "hoạt hóa" tiền enzym polypeptide u-PA được thực hiện bằng cách lắc nhẹ dung dịch protein/nhựa trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Từ đó, tiền enzym polypeptide u-PA-HSA đã được biến đổi được chuyển đổi hoàn toàn thành protease u-PA-HSA có hoạt tính tương ứng.

Các polypeptit u-PA-HSA được sửa đổi đã hoạt hóa được thu hồi từ nhựa plasmin bằng cách sử dụng bộ lọc spin 0,2 µm (dung tích 2,0 mL) và ly tâm để thu hồi u-PA-HSA đã được hoạt hóa từ nhựa plasmin theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Để tối multime hóa việc thu hồi, các kỹ thuật lọc bổ sung có thể được hình dung (trái ngược với việc kéo nhựa xuống và thu hồi phần nổi phía trên bằng cách chiết bằng pipet). Các thiết bị lọc liên kết protein thấp khác cũng có thể được sử dụng để lọc thêm nhựa. Các protein dung hợp u-PA-HSA đã được hoạt hóa được bảo quản ở 4°C hoặc đông lạnh trong các phần nhỏ. Xác nhận về bước hoạt hóa hoàn chỉnh đã được SDS-PAGE hiển thị trong các điều kiện khử để tách miền đầu N ra khỏi liên hợp tổng hợp HSA miền proteaza.

4. Ức chế protein dung hợp u-PA-HSA được hoạt hóa đã biến đổi

Đối với một số thí nghiệm, mong muốn sử dụng dạng polypeptit tổng hợp u-PA-HSA không hoạt tính về mặt xúc tác (được nêu dưới dạng gốc 21-1022 của SEQ ID NO: 1015, như đã thảo luận ở trên; xem ví dụ: SEQ ID NO: 1019). Để tạo ra một protein được chỉ định là u-PA-HSA được sửa đổi bị ức chế (u-PA-HSAi), u-PA-HSA đã được hoạt hóa (u-PA-HSAa) được ủ với chất ức chế vị trí hoạt động không thể đảo ngược, Glu-Gly-Arg- Chloromethylketone (EGR-CMK), để ngăn chặn bất kỳ quá trình tự phân giải nào của polypeptit u-PA-HSA đã được sửa đổi hoặc sự bất hoạt/phân cắt trong các thí nghiệm in vivo (xem ví dụ: Ví dụ 15 và 16). Để điều chế u-PA-HSAi, EGR-CMK đông khô (Molecular Innovations; Cat. No. GGACK) được hoàn nguyên thành 100 mM trong 10 mM HCl. EGR-CMK đậm đặc được thêm vào mẫu u-PA-HSA đã được hoạt hóa (u-PA-HSAa) ở nồng độ gốc để đạt được nồng độ chất ức chế cuối cùng là 1mM chất ức chế EGR-CMK trong 1x PBS và hỗn hợp được phép ủ trong 1 giờ tại RT.

Để đánh giá xem u-PA-HSAa có bị ức chế hoàn toàn hay không, sự suy giảm của u-PA-HSAi biến đổi được so sánh với u-PA-HSAa đã được sửa đổi trong một thí nghiệm về độ ổn định. Tóm lại, u-PA-HSAi biến đổi và u-PA-HSAa đã được sửa đổi được ủ trong 0 giờ, 1 ngày hoặc 7 ngày ở 37°C. Sự phân hủy u-PA-HSAi và u-PA-HSAa biến đổi được theo dõi trực quan bằng phương pháp điện di trên gel SDS-PAGE giảm và không giảm trong các điều kiện giảm và không giảm. Các dải được hình dung bởi Comassie hoặc vết bẩn tương tự khác có bán trên thị trường. Các kết quả chứng minh rằng việc ủ trước với chất ức chế làm ổn định polypeptit, vì không có sản phẩm phân hủy nào được quan sát thấy đối với u-PA-HSAi được biến đổi tại bất kỳ thời điểm nào lên đến 7 ngày, so với sự phân hủy được quan sát thấy của u-PA-HSAa đã được sửa đổi sau khi ủ cho 1 ngày hoặc 7 ngày ở 37°C.

5. Tinh chế các polypeptit u-PA-HSAa và u-PA-HSAi sau khi hoạt hóa

Trong vòng tinh chế cuối cùng, polypeptit u-PA-HSA biến đổi có hoạt tính và bị ức chế được phân lập từ tạp chất có khối lượng phân tử cao và thấp bằng cách sử dụng sắc ký loại trừ kích thước. Quá trình tinh chế đã loại trừ loài có khối lượng phân tử cao được rửa giải dưới dạng đỉnh rời rạc trước đỉnh u-PA-HSA chính. Loài có khối lượng phân tử cao không được phân tích thêm, tuy nhiên có thể đại diện cho kết tụ hoặc multime được tạo thành trong bước biểu hiện hoặc hoạt hóa trong quá trình. Loài thứ cấp, khối lượng phân tử thấp được cho là không có albumin được tạo ra trong quá trình biểu hiện hoặc hoạt hóa cũng bị loại bỏ.

Quá trình tinh chế được tiến hành như sau; a ~ 300 µL mẫu u-PA-HSAi sửa đổi (0,8mg) hoặc ~ 400 µL mẫu u-PA-HSAa sửa đổi (0,8mg) được tải lên cột sắc ký loại trừ kích thước (HiPrep 16/60 Sephacryl S- 200 HR; GE Heathcare, Cat. Số GE17-1166-01) trong PBS ở pH 7,0 với tốc độ dòng 0,5 mL/phút. Protein thường được tinh chế theo hướng dẫn của nhà sản xuất đối với nhựa (GE Healthcare) với đỉnh chính chứa u-PA-HSAi hoặc u-PA-HSAa đã được sửa đổi được giữ lại.

Chất lượng của các chế phẩm và mức độ phân cắt được đánh giá thêm bằng phương pháp điện di trên gel SDS-PAGE khử và không khử. Các phân đoạn rửa giải của mẫu polypeptit u-PA-HSAi hoặc u-PA-HSAa sửa đổi được nạp vào mỗi "làn" của gel SDS-PAGE không khử 12 giếng và chạy ở 40V cho đến khi các dải đủ phân biệt và có kích thước khác nhau các loài protein được hình dung bằng phương pháp nhuộm bạc để cải thiện độ nhạy so với nhuộm Coomassie tiêu chuẩn. Các phân đoạn chứa các dải đơn di chuyển ở trọng lượng phân tử dự kiến là 75 kDa được gộp lại và đông lạnh nhanh trong nitơ lỏng ở nồng độ cuối cùng khoảng 2 mg/mL và được bảo quản ở -80°C cho đến khi sử dụng. Nồng độ cuối cùng được xác định bằng cách hấp thụ ở 280 nM sử dụng máy quang phổ NanoDrop. Kích thước và biểu hiện của protein sau đó được xác nhận bằng nhuộm Comassie và SDS-PAGE. Chất lượng của các mẫu polypeptit u-PA-HSA riêng lẻ được đánh giá thêm bằng các xét nghiệm hoạt tính và quang phổ khối.

Ví dụ 15

Miền proteaza u-PA biến đổi và Đánh giá dược động học của protein dung hợp u-PA-HSA được sửa đổi sau khi tiêm trong mắt

Dược động học và độc tính công khai ở mắt của polypeptit dung hợp u-PA-HSA biến đổi được đánh giá. Protein dung hợp chứa miền proteaza polypeptit u-PA được biến đổi ae (SEQ ID NO:987, là SEQ ID NO:21, ngoại trừ C122S là C122C), như được mô tả ở trên trong ví dụ 14. Protein dung hợp có trình tự được nêu trong SEQ ID NO:1019, là gốc 21-1022 của SEQ ID NO:1015. Như được mô tả trong ví dụ 14, miền proteaza của u-PA biến đổi được nêu trong SEQ ID NO:987. Profin dược động học của protein dung hợp u-PA-HSA biến đổi được hoạt hóa và ức chế (SEQ ID NO:1015) được đánh giá *in vivo* ở thỏ Dutch Belted và so sánh với profin dược động học của miền proteaza u-PA biến đổi chỉ như đã nêu trong SEQ ID NO:21. Tám con thỏ được chỉ định cho mỗi nhóm trong ba nhóm xử lý (nhóm 1: u-PA-HSAa biến đổi; nhóm 2: u-PA-HSAi biến

đổi; nhóm 3: miền u-PA proteaza biến đổi (SEQ ID NO: 21)). Động vật nghiên cứu được dùng 50 µL của 2,1 mg/mL u-PA-HSAi và u-PA-HSAa đã biến đổi, hoặc 1,15 mg/mL u-PA đã biến đổi (SEQ ID NO: 21), cho mỗi mắt, thông qua tiêm nội nhãn (IVT). Đối với nhóm được điều trị bằng u-PA biến đổi có chứa proteaza biến đổi, mắt phải nhận polypeptit u-PA biến đổi và mắt trái được tiêm PBS làm đối chứng vật truyền (PBS). Bảng dưới đây tóm tắt nhóm và điều kiện cũng như đánh giá được thực hiện:

Nhóm	Chế phẩm	Nồng độ (mg/mL)	Liều lượng/ Lộ trình	Phương pháp/ thời gian chấm điểm kích ứng	Điểm thời gian cuối cùng	Chất lỏng và Mô được Thu thập (OS và OD)*
1 (n=8)	Hoạt hóa u-PA biến đổi-HSA (u-PA-HSAa)	2,1 mg/mL	50 µL/ mắt trong mắt	Draize/ trước khi chết	1, 3, 7, và 14 ngày sau liều (n=2/ thời điểm)	Thủy dịch, thủy tinh thể, võng mạc, màng mạch, huyết tương
2 (n=8)	Ức chế u-PA biến đổi-HSA (u-PA-HSAi)	2,1 mg/mL	50 µL/ mắt trong mắt	Draize/ trước khi chết	1, 3, 7, và 14 ngày sau liều (n=2/ thời điểm)	Thủy dịch, thủy tinh thể, võng mạc, màng mạch, huyết tương
3 (n=8)	Miền proteaza u-PA biến đổi (SEQ ID NO: 21)	1,15 mg/mL	50 µL/ mắt trong mắt Mắt phải/đối chứng	Draize/ trước khi chết	1, 3, và 7 ngày sau liều (n=2-3/ mốc thời gian)	Thủy dịch, thủy tinh thể, võng mạc, màng mạch, huyết tương

* OS và OD dùng để chỉ mắt phải và trái, tương ứng

1. Khả năng chịu đựng xung huyết u-PA biến đổi và protein dung hợp u-PA-HSA biến đổi

Trong thời gian dùng liều và trước khi chết, quan sát lâm sàng và mắt được tiến hành và ghi lại khối lượng cơ thể. Kiểm tra mắt được thực hiện trên cả hai mắt vào 1, 3, 7 và 14 ngày (nhóm 1 và 2) hoặc 1, 3 và 7 ngày (nhóm 3) sau khi dùng liều, và kích thích mắt được cho điểm bằng thang đo Draize. Hệ thống chấm điểm Draize (Draize *et al.*, (1944) *J Pharm Exper Ther* 82 (3) 377-90) đánh giá kích thích mắt ở giác mạc, mống

mắt và kết mạc và đưa ra các tiêu chí để chấm điểm kích thích trên thang 0-2 hoặc 0-4. Điểm "0" cho thấy giác mạc, mống mắt hoặc kết mạc bình thường. Tại tất cả các thời điểm, kích thích mắt được cho điểm 0 khi được đánh giá bằng cách sử dụng tiêu chí Draize cho tất cả các động vật, ngoại trừ một con thỏ có 2 điểm là "1" cho thấy "đỏ" trong ddos "mạch chắc chắn được tiêm trên mức bình thường" và "hóa chất" với "sưng trên bình thường" của kết mạc. Các điểm số "1" này quan sát được ở một con thỏ trong nhóm 2 (u-PA-HSAi) trong vòng vài giờ sau khi dùng u-PA-HSAi nội nhãn ở ngày 1. Quan trọng nhất là không có độc tính nào được quan sát thấy sau khi dùng nội nhãn u-PA biến đổi và protein dung hợp hoạt hóa u-PA-HSA biến đổi.

2. Dược động học của protein dung hợp u-PA biến đổi và u-PA-HSA đã được sửa đổi

Để xác định nồng độ polypeptit u-PA-HSA sửa đổi và u-PA-HSA sửa đổi (nM) và các thông số dược động học, các mẫu cuối của mô và chất lỏng ở mắt được thu thập sau khi gây tê cả hai mắt vào các ngày 1, 3, 7 và 14 bằng cách sử dụng hai con vật. mỗi thời điểm. Sau khi chết, cả hai mắt của mỗi con thỏ được thu hoạch và mổ xẻ để thu thập các mô và chất lỏng trong mắt (thủy dịch (AH), thủy tinh thể (VH), võng mạc và màng mạch)) để đánh giá u-PA và u-PA-HSA biểu hiện và hoạt động. Sau khi thu thập, một lượng thủy tinh thể thỏ, võng mạc và màng mạch cân nặng đã được đồng nhất trong các vi ống chống va đập (Khoa học Hoa Kỳ) có chứa các hạt gốm 2,8 mm. Đối với các mô VH, võng mạc và màng mạch, một lượng muối đệm phosphat nhất quán trên mỗi miligam mô được thêm vào mỗi ống. Các mẫu võng mạc và màng mạch được pha loãng 9: 1 (thể tích chất pha loãng: thể tích mô) và các mẫu VH được pha loãng 4: 1 (thể tích chất pha loãng: thể tích VH) với nước muối đệm phosphat. Các mẫu được đồng nhất (máy đồng nhất Precellys®) ở 0 đến 10°C, ở tốc độ 5500 vòng/phút trong chu kỳ 3 × 30 giây với 20 giây tạm dừng giữa các chu kỳ cho đến khi đồng nhất hoàn toàn.

Nồng độ được xác định bằng ELISA (nM) và hoạt độ (nM) của polypeptit u-PA và u-PA-HSA biến đổi trong VH được xác định lần lượt bằng cách sử dụng ELISA và thử nghiệm hoạt tính. Để xác định nồng độ, ELISA bánh kẹp kháng u-PA được thực hiện như sau: kháng thể bắt PA1-36166 (Invitrogen) được phủ trên đĩa ELISA qua đêm ở 4°C hoặc 2 giờ ở RT với nồng độ 1,0 ug/mL trong dung dịch đệm cacbonat 100 mM, pH 9,5. Đĩa sau đó được rửa 3X với PBST (1X PBS chứa tween) sau đó được chặn bằng BSA 1% trong PBS-tween qua đêm ở 4°C hoặc 2 giờ ở RT. 50 µL của mỗi mẫu được ủ trong 30 phút ở RT có lắc, sau đó rửa 3 lần bằng PBS và ủ với kháng thể phát hiện PA1-

36015 (Invitrogen ở 0,25ug/mL trong 30 phút). Giếng được rửa lại và sau đó được ủ với kháng thể kháng dê liên hợp HRP (Rockland) ở độ pha loãng 1:30000 trong 30 phút với lắc ở RT. Sau khi rửa 6X bằng PBST, polypeptit u-PA biến đổi liên kết và polypeptit u-PA-HSA biến đổi được hình dung bằng cách phát hiện với TMB 1 bước (34028, Thermo), dập bằng axit sulfuric 2N trước khi đọc độ hấp thụ ở bước sóng 450nm.

Việc định lượng polypeptit u-PA và polypeptit u-PA-HSA biến đổi trong VH bằng hoạt tính được theo sau bằng cách sử dụng một xét nghiệm dựa trên sự thủy phân của cơ chất peptit huỳnh quang đã được dập tắt (FRET) và được hiệu chuẩn theo đường chuẩn của polypeptit u-PA biến đổi của nồng độ hoạt tính đã biết. Xét nghiệm này sử dụng cơ chất peptit FRET dựa trên trình tự phân cắt của bổ thể 3 (C3) của người. Trình tự của peptit là RQHAR/ASHL, trong đó "/" cho biết vị trí phân cắt. Mặt tận cùng N của peptit được đánh dấu bằng fluorophore DABCYL và phía đầu C được đánh dấu bằng fluorophore EDANS. Sự phân cắt của peptit sẽ tách cặp EDANS/DABCYL FRET để tạo ra tín hiệu huỳnh quang, tín hiệu này được đo trong đầu đọc tấm huỳnh quang nhiều giếng.

Thử nghiệm được tiến hành như sau: mẫu thử nghiệm thường được pha loãng đến độ pha loãng yêu cầu tối thiểu là 1:20 trong dung dịch đệm thử nghiệm (Tris 100 mM, NaCl 50 mM, 0,01% Tween-80, pH 7,4). Mẫu đã pha loãng được pha loãng thêm 1:2 với cơ chất FRET 80 µM trong đĩa 96 giếng. Ngay sau khi kết hợp mẫu thử đã pha loãng và cơ chất, tín hiệu huỳnh quang sau quá trình thủy phân cơ chất FRET được đánh giá trong thiết bị đọc tấm huỳnh quang với phép đo cứ sau 30 giây trong 2 giờ. Sự thủy phân bằng enzym của cơ chất peptit FRET tạo ra sản phẩm huỳnh quang EDANS. Tốc độ tạo ra cường độ huỳnh quang được nội suy theo đường cong chuẩn EDANS để mang lại tốc độ tạo sản phẩm EDANS. Hoạt tính cụ thể có thể được tính theo hai cách. Đầu tiên, tốc độ tạo sản phẩm được nhân với hệ số pha loãng để thu được hoạt độ thể tích riêng tính bằng đơn vị nmol sản phẩm trên mỗi phút phản ứng trên mL mẫu (nmol/phút/mL). Hoạt độ thể tích cụ thể cho biết tổng lượng enzym hoạt tính trong mẫu. Thứ hai, hoạt độ cụ thể được tính bằng cách chia hoạt độ riêng thể tích cho nồng độ enzym mẫu để thu được hoạt độ cụ thể của enzym tính bằng đơn vị nmol sản phẩm mỗi phút phản ứng trên mg enzym (nmol/phút/mg). Đối với thử nghiệm để xác định nồng độ proteaza biểu kiến của mẫu chưa biết (ví dụ, mẫu PK *in vivo*), hoạt tính cụ thể về thể tích của mẫu (nmol/phút/mL) được chia cho hoạt tính cụ thể của enzym của polypeptit

u-PA biến đổi hoặc u-PA-HSA biến đổi đối chứng (nmol/phút/mg) để thu được nồng độ proteaza biểu kiến trong mẫu (mg/mL).

Dữ liệu cho từng mắt và động vật được cung cấp trong Bảng dưới đây. Nồng độ thu được cho mỗi mắt được tính trung bình trên mỗi con vật. Sau đó, nồng độ thuốc cho mỗi con vật được tính trung bình tại mỗi thời điểm để bù đắp cho sự thay đổi giữa các con vật. Phương tiện tại mỗi thời điểm được tính toán và trình bày trong Bảng dưới đây. Dữ liệu thu được sau đó phải tuân theo phương pháp phân tích sau: Đầu tiên, phương pháp hồi quy mạnh mẽ theo từng đoạn bán tham số được phát triển bởi Lee *et al.*, (xem, Lee *et al.*, (1990) *J. Lab Clin. Med.* 115:745-748; and Lee *et al.* (1997) "The use of robust regression techniques to obtain improved coagulation factor half-life estimates. XVIth Congress of the International Society for Thrombosis and Hemostasis," Florence, Italy) đã được sử dụng để tính toán thời gian bán rã. Nó là một mô hình ngăn. Dữ liệu được đánh giá bằng cách sử dụng chương trình Demitasse, chương trình đã được xác nhận và sử dụng cho các đệ trình của FDA. Để phân tích diện tích dưới đường cong thời gian (AUC) và các tham số PK khác, một mô hình không ngăn dựa trên quy tắc hình thang đã được sử dụng. Các tham số PK đã được tính toán và được trình bày trong bảng dưới đây.

Bảng

Điều kiện	thời điểm (d)	Nồng độ thuốc bằng ELISA (nM)	Nồng độ bằng hoạt tính (nM)
u-PA-HSAi biến đổi	0	842,90	n.d.
	1	385,08	n.d.
	1	**122,79**	**n.d.**
	1	289,90	n.d.
	1	270,36	n.d.
	3	289,25	n.d.
	3	257,84	n.d.
	3	254,54	n.d.
	3	265,59	n.d.

Điều kiện	thời điểm (d)	Nồng độ thuốc bằng ELISA (nM)	Nồng độ bằng hoạt tính (nM)
	7	120,94	n.d.
	7	138,35	n.d.
	7	144,15	n.d.
	7	113,22	n.d.
	14	30,13	n.d.
	14	27,53	n.d.
	14	36,28	n.d.
	14	25,37	n.d.
u-PA-HSAa biến đổi	0	842,90	842,90
	1	368,35	749,14
	1	264,23	344,78
	1	311,69	460,72
	1	**<LOD**	**0,35**
	3	199,27	505,84
	3	168,21	283,60
	3	132,80	179,47
	3	181,28	239,77
	7	64,47	156,92
	7	61,08	82,45
	7	73,70	98,58
	7	51,94	51,25
	14	9,69	31,96
	14	7,55	72,49
	14	5,35	15,63

Điều kiện	thời điểm (d)	Nồng độ thuốc bằng ELISA (nM)	Nồng độ bằng hoạt tính (nM)
	14	6,79	10,38
u-PA biến đổi (SEQ ID NO: 21)	0	1838,69	1838,69
	1	214,47	203,44
	1	222,15	251,46
	1	182,63	183,70
	3	**<LOD**	**6,48**
	3	130,01	110,85
	3	98,91	75,91
	7	21,55	25,24
	7	31,49	19,44

*Các ô in đậm nằm ngoài giới hạn phát hiện và/hoặc được coi là ngoại lệ hoặc bị loại trừ dựa trên thử nghiệm ngoại lệ

Bảng

Ngày nghiên cứu	u-PA-HSAi biến đổi (ELISA)	u-PA-HSAa biến đổi (ELISA)	u-PA biến đổi (ELISA)
1	267,03	314,76	206,42
3	266,81	170,39	114,46
7	129,16	62,80	26,52
14	29,83	7,35	n/a
Ngày nghiên cứu	u-PA-HSAi biến đổi (Hoạt tính)	u-PA-HSAa biến đổi (Hoạt tính)	u-PA biến đổi (Hoạt tính)
1	n.d.	388,75	212,86
3	n.d.	302,17	64,41
7	n.d.	97,30	22,34
14	n.d.	32,61	n/a

Vật phẩm thử nghiệm	Kết quả ELISA (ngày đầu tận t-half)	Kết quả hoạt tính (ngày đầu tận t-half)
u-PA-HSAi biến đổi	3,42 (MRT = 5,56)	n.d.
u-PA-HSAa biến đổi	2,42 (MRT = 3,79)	3,27 (MRT = 4,71)
u-PA biến đổi (SEQ ID NO: 21)	2,01 (MRT = 3,29)	1,95 (MRT = 3,01)

Dựa trên thử nghiệm ELISA và hoạt tính, miền proteaza biến đổi của u-PA (chứa polypeptit u-PA biến đổi của SEQ ID NO:21) có thời gian bán rã khoảng 2 ngày. Dung hợp với HSA, tăng thời gian bán rã của protein. u-PA-HSAa biến đổi hoạt hóa có thời gian bán rã 2,42 ngày và 3,27 ngày, như được đo bằng ELISA và hoạt tính, tương ứng. Thời gian bán rã tăng đối với u-PA-HSA theo chỉ dẫn ức chế với thời gian bán rã được xác định bằng là 3,42 ngày. Vì vậy, dung hợp của u-PA với HSA tăng thời gian bán rã protein *in vivo*, và protein dung hợp giữ lại hoạt tính proteaza *in vivo*.

Ví dụ 16

Nhân dòng, biểu hiện và điều chế protein dung hợp u-PA

A. Nhân dòng polypeptit dung hợp u-PA

Protein dung hợp u-PA được tạo ra với đối tác dung hợp ở đầu tận N hoặc đầu tận C.

1. Polypeptit dung hợp làm ví dụ

Vài các cấu trúc thay thế để biểu hiện các protein dung hợp u-PA đã được tạo ra (mô tả bên dưới). Ví dụ, các protein dung hợp ở đầu N được tạo ra (xem, ví dụ, Fig. 2A). Các cấu trúc chứa (từ đầu N đến đầu C): (1) tín hiệu tiết (ví dụ, vùng V-III chuỗi Ig kappa của chuột (IgGκ) (SEQ ID NO: 999); (2) đối tác dung hợp (ví dụ, IgG1 Fc (SEQ ID NO: 992)); (3) trình liên kết, như AGS (SEQ ID NO: 1003); với (4) trình tự hoạt hóa u-PA kiểu dại (SEQ ID NO: 997; axit amin 167-178 của SEQ ID NO: 1); và (5) miền u-PA protease được sửa đổi (SEQ ID NO: 987). Ví dụ về protein dung hợp đầu N được nêu trong SEQ ID NO: 1004.

Protein dung hợp ở đầu tận C cũng được tạo ra (xem, ví dụ, Fig. 3). Trong một số ví dụ, cấu trúc chứa (từ đầu tận N đến đầu tận C): (1) tín hiệu tiết (vùng V-III chuỗi

Ig kappa của chuột (IgGκ) (SEQ ID NO: 999); hoặc Interleukin-2 của người (hIL2) (SEQ ID NO: 1000)); (2) trình tự hoạt hóa u-PA kiểu dại (SEQ ID NO: 997 hoặc 998), trình tự hoạt hóa furin (SEQ ID NO: 995, 996, hoặc 1041), hoặc không có trình tự hoạt hóa; (3) miền u-PA proteaza biến đổi (SEQ ID NO: 987 hoặc 21) hoặc miền proteaza u-PA kiểu dại (SEQ ID NO: 2 hoặc 5); (4) trình tự liên kết (SEQ ID NO: 1002 hoặc 1003); và (5) đối tác dung hợp (tức là IgG1 Fc (SEQ ID NO: 992); albumin huyết thanh của người (HSA) (SEQ ID NO: 991); cFv liên kết với Collagen IIm (C2scFv) (SEQ ID NO: 993) ; hoặc miền liên kết axit hyaluronic (HABD) (SEQ ID NO: 994)). Ví dụ của protein dung hợp ở đầu tận C được nêu trong SEQ ID NO: 1006-1010, 1012, 1013, 1016 và 1040 (xem ví dụ: Fig. 3A và Fig. 3B).

Các protein dung hợp ở đầu C chứa vùng đầu tận N u-PA cũng được tạo ra. Các cấu trúc chứa (từ đầu N đến đầu C): (1) tín hiệu bài tiết (vùng V-III chuỗi Ig kappa của chuột (IgGκ); SEQ ID NO: 999); (2) vùng đầu tận cùng u-PA N kiểu dại (axit amin 21-178 của SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 1042); (3) trình tự hoạt hóa u-PA (SEQ ID NO: 997 hoặc 998) hoặc trình tự hoạt hóa furin (SEQ ID NO: 995, 996, hoặc 1041); (4) miền xúc tác u-PA được sửa đổi (SEQ ID NO: 987 hoặc SEQ ID NO: 5, ngoại trừ với C122, bằng cách đánh số chymotrypsin, hoặc SEQ ID NO: 21); (5) trình liên kết (SEQ ID NO: 1002 hoặc 1003); và (6) đối tác dung hợp (tức là IgG1 Fc (SEQ ID NO: 992); albumin huyết thanh người (HSA) (SEQ ID NO: 991)). Ví dụ về protein dung hợp ở đầu C được nêu trong SEQ ID NO: 1011, 1014, 1015 và 1036 (xem ví dụ, Fig. 3C). Xem thêm SEQ ID NO: 1010, chứa trình tự hoạt hóa furin thay cho u-PA

Các protein dung hợp chứa SUMO ở đầu tận N và đối tác dung hợp ở đầu cuối C cũng được tạo ra. Các cấu trúc chứa (từ đầu N đến đầu C): (1) tín hiệu tiết (vùng V-III chuỗi Ig kappa của chuột (IgGκ) (SEQ ID NO: 999)); (2) trình liên kết HIS và trình tự SUMO (SEQ ID NO: 990); (3) miền xúc tác u-PA được sửa đổi (SEQ ID NO: 987); (4) trình liên kết (SEQ ID NO: 1002); và (5) đối tác dung hợp (tức là IgG1 Fc (SEQ ID NO: 992); hoặc albumin huyết thanh người (HSA) (SEQ ID NO: 991)). Ví dụ về protein dung hợp ở đầu C được nêu trong SEQ ID NO: 1016 và 1017.

Protein u-PA có chiều dài đầy đủ không được dung hợp với đối tác dung hợp được tạo ra làm đối chứng (xem, ví dụ, Fig. 2B). Cấu trúc chứa (từ đầu tận N đến đầu tận C): (1) tín hiệu tiết (vùng V-III chuỗi Ig kappa của chuột (IgGκ) (SEQ ID NO: 999)); (2) miền đầu tận N của u-PA (SEQ ID NO:1040; axit amin 21-166 của SEQ ID NO: 1);

(3) trình tự hoạt hóa u-PA (SEQ ID NO: 997); và (4) miền u-PA proteaza biến đổi (SEQ ID NO: 987). Ví dụ của protein u-PA có chiều dài đầy đủ được nêu trong SEQ ID NO: 1005. Sau đây là tóm tắt về cấu trúc được tạo ra:

SEQ ID NO:	Trình tự tín hiệu	Đối tác dung hợp	Trình tự hoạt hóa	Vị trí đối tác dung hợp	Miền proteaza của u-PA
1004	IgGκ	IgG1 Fc	u-PA với Cys	đầu tận N	SEQ ID NO: 987
1005	IgGκ	Không có đối tác dung hợp	uPA chiều dài đầy đủ w/ Cys	Không có đối tác dung hợp	SEQ ID NO: 987
1006	hIL2	IgG1 Fc	Không có trình tự hoạt hóa	đầu tận C	SEQ ID NO: 21
1007	hIL2	HSA	Không có trình tự hoạt hóa	đầu tận C	SEQ ID NO: 21
1008	hIL2	C2 scFv	Không có trình tự hoạt hóa	đầu tận C	SEQ ID NO: 21
1009	hIL2	HABD	Không có trình tự hoạt hóa	đầu tận C	SEQ ID NO: 21
1010	IgGκ	IgG1Fc	u-PA furin w/o Cys	đầu tận C	SEQ ID NO: 21
1011	IgGκ	IgG1Fc	uPA kiểu dại chiều dài đầy đủ w/ Cys	đầu tận C	SEQ ID NO: 987
1012	hIL2	IgG1 Fc	Không có trình tự hoạt hóa	đầu tận C	SEQ ID NO:5
1013	hIL2	HSA	Không có trình tự hoạt hóa	đầu tận C	SEQ ID NO:5
1014	IgGκ	HSA	furin với Cys	đầu tận C	SEQ ID NO: 987
1015	IgGκ	HSA	u-PA với Cys	đầu tận C	SEQ ID NO: 987
1016	IgGκ	HSA	furin mà không có Cys	đầu tận C	SEQ ID NO: 21
1017	IgGκ	HSA	SUMO	đầu tận C	SEQ ID NO: 21
1018	IgGκ	IgG1 Fc	SUMO	đầu tận C	SEQ ID NO: 21

Protein đối chứng có trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1005. Protein đối chứng chứa đầu tận N u-PA (gốc 1-158 của SEQ ID NO:3), trình tự hoạt hóa u-PA kiểu dại, và miền proteaza u-PA (SEQ ID NO:987), và không có đối tác dung hợp. Protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1004 bao gồm đối tác dung hợp (Fc) ở đầu tận N. Protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1006-1009 có các đối tác dung hợp khác nhau ở đầu tận C và thiếu đầu tận N trình tự hoạt hóa với miền proteaza u-PA biến đổi. Protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1010 và 1011 chứa Fc ở đầu tận C và được hoạt hóa khác với nhau: protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1010 chứa trình tự hoạt hóa furin; và protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1011 chứa vùng tận cùng thứ n của u-PA và trình tự hoạt hóa u-PA kiểu dại. Các protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1012 và 1013 cũng giống như các protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1006 và 1007, nhưng có miền u-PA protease kiểu dại thay cho u biến đổi Miền protease -PA.

Các protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1014-1016 chứa HSA ở đầu cuối C và được hoạt hóa khác nhau: protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1014 chứa trình tự hoạt hóa furin; protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1015 chứa trình tự hoạt hóa u-PA kiểu dại để hoạt hóa; và protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1016 chứa miền furin để hoạt hóa. Các protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1017 và 1018 chứa SUMO như một miền hoạt hóa ở đầu cuối N, và HSA hoặc IgG-Fc ở đầu cuối C, tương ứng. Các vị trí hoạt hóa Furin được thêm vào các protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1010, 1014 và 1016 để protein có thể được hoạt hóa trong quá trình biểu hiện, do đó loại bỏ yêu cầu về một bước hoạt hóa trong quá trình xử lý xuôi dòng.

2. Tạo thành cấu trúc

(a) Chuẩn bị các cấu trúc u-PA

Các cấu trúc được tập hợp từ các oligonucleotit tổng hợp và/hoặc các sản phẩm PCR và được nhân bản vào vector pcDNA3.4-TOPO (Invitrogen; Cat. No. A14697) để biểu hiện dưới sự kiểm soát của trình khởi động/tăng cường ngay lập tức cytomegalovirus (CMV) ở người.

(b) Chuẩn bị cấu trúc SUMO-u-PA

Để biểu hiện các protein dung hợp có chứa thẻ SUMO (được nêu trong SEQ ID NO: 1017 và 1018), DNA mã hóa polypeptit u-PA biến đổi với C122S (nêu trong SEQ ID NO: 21) đã được nhân bản vào biểu hiện pE5 được tối ưu hóa codon vectơ (Thermo Scientific; trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 988). Plasmid pE5 chứa nhiều vị trí nhân bản-đầu cuối C với trình tự SUMO để nhân bản đối tác dung hợp (HSA hoặc Fc) và miền u-PA protease đã sửa đổi. Protein dung hợp cuối cùng là (1) đối tác dung hợp (HSA hoặc FC); (2) miền u-PA protease được sửa đổi với C122S (SEQ ID NO: 21); với thẻ thanh lọc 6xHis đầu cuối N (3); và (4) SUMO.

B. Điều chế polypeptit dung hợp u-PA

Khối lượng phân tử dự kiến của các protein dung hợp u-PA được trình bày dưới đây:

		Giảm MW trông đợi	
Tên	Không giảm MW mong đợi	MW với hoạt hóa	MW mà không hoạt hóa
1004	111012	u-PA biến đổi: 28445,36 Fc: 27078,73	55506,07
1005	46389	u-PA biến đổi: 28445,36 uPA: 17961,36	46388,7
1006	108467	54233,44	
1007	95286	95285,85	
1008	55226	55226	
1009	40297	40297	
1010	111146	54233,44	55573
1011	144386	uPA: 17961,36 u-PA biến đổi - Fc:54249,50	72192,85
1012	108461	54230,5	
1013	95283	95282,91	

1. Biến nạp, biểu hiện, gấp và phản chiếu các protein dung hợp u-PA

Các protein dung hợp với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1004-1013 đã được biến đổi và thể hiện như chi tiết trong Ví dụ 14 ở trên.

2. Biến nạp, biểu hiện, gấp và phản chiếu của các protein dung hợp u-PA-SUMO (Small Ubiquitin-Like Modifier)

Các protein dung hợp với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1017 và 1018 đã được chuẩn bị chi tiết dưới đây.

Nhân dòng polypeptit dung hợp u-PA được sửa đổi SUMO đối với Biểu hiện *E. coli*

Tế bào *E. coli* có năng lực BL21 Gold (DE3) được biến nạp với protein dung hợp u-PA trong một vector biểu hiện (SEQ ID NO: 988), được điều chế bởi Thermo Scientific, sử dụng phương pháp sốc nhiệt tiêu chuẩn. DNA plasmid được ngâm lại trong 50 µL MQ nước để thu được dung dịch gốc 100 ng/mL. DNA plasmid và các tế bào BL21 Gold DE3 có thẩm quyền được rã đông trên đá. 0,5 µL DNA, được thêm vào các tế bào 50 µL trong một ống siêu nhỏ vô trùng và được ủ trên đá trong 30 phút. Hỗn hợp tế bào/DNA được sốc nhiệt bằng cách đặt ở 42°C trong 45 giây. Hỗn hợp tế bào/DNA ngay lập tức được chuyển trở lại nước đá và ủ trên đá trong 2 phút. Môi trường SOC 450 µL đã được làm ấm trước (37°C) được thêm vào hỗn hợp tế bào/DNA, và hỗn hợp SOC/tế bào/DNA thu được được ủ ở 37°C với lắc. Các tế bào trong SOC (2-200 µL) được mạ và trải trên các đĩa LB-carbenicillin, được ủ qua đêm ở 37°C. Các đĩa chứa khuẩn lạc vi khuẩn được lấy ra khỏi tủ ấm, đậy kín bằng parafilm và bảo quản ở 4°C. Dự trữ glyxerol của các khuẩn lạc đã biến nạp riêng lẻ được chuẩn bị bằng các phương pháp tiêu chuẩn và được bảo quản ở -70°C.

C. Đánh giá biểu hiện protein của protein dung hợp trong nuôi cấy tế bào động vật có vú

Nồng độ protein từ dịch nổi bề mặt nuôi cấy tế bào expi293 (xem ví dụ 14) được đánh giá bằng ELISA và định tính bằng thấm tách western. Biểu hiện của protein sau

khi thấm tách western được ghi điểm theo thang điểm từ 1 đến 5, trong đó 1 đại diện cho biểu hiện cao nhất và 5 đại diện cho không biểu hiện.

Sáu mẫu đã được thử nghiệm cho mỗi cấu trúc. Kết quả được trình bày trong bảng dưới đây. Kết quả cho thấy bằng ELISA và Thấm tách western của các protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1004, 1007-1009 và 1013 được biểu hiện kém. Các protein được nêu trong SEQ ID NO: 1005, 1010 và 1011 có biểu hiện cao nhất được đánh giá bằng phương pháp định tính Thấm tách western và ELISA.

Bảng: Biểu hiện protein được đánh giá bằng ELISA		
SEQ ID Mẫu	Tiêu chuẩn ELISA (mg/L)	u-PA ELISA (mg/L)
1004	0,4	0,4
1005	75,39	149,7
1006	2,2	2,6
1007	0,3	0,3
1008	0,06	0,1
1009	0,26	0,3
1010	15,89	17,3
1011	21,66	19,3
1012	7,5	16,2
1013	5,46	4,7

R bình phương = 0,9993; giới hạn phát hiện = 0,109 ng/mL; giới hạn định lượng =1,375 ng/mL

Bảng: Biểu hiện protein được đánh giá bởi thấm tách western	
SEQ ID NO:	Xếp hạng SDS-PAGE/Western
1004	4
1005	1
1006	3

Bảng: Biểu hiện protein được đánh giá bởi thấm tách western	
SEQ ID NO:	Xếp hạng SDS-PAGE/Western
1007	3
1008	5
1009	5
1010	1
1011	1
1012	3
1013	4

D. Chiến lược hoạt hóa protein dung hợp

Nhiều chiến lược khác nhau đã được sử dụng để kích hoạt u-PA. Các protein nêu trong SEQ ID NO: 1004-1005, 1011 và 1015 được kích hoạt bởi plasmin, như đã nêu chi tiết ở trên trong Ví dụ 14. Các protein nêu trong SEQ ID NO: 1010, 1014 và 1016 được mong đợi sẽ được kích hoạt bởi furin nội bàotrong quá trình biểu hiện. Protein được nêu trong SEQ ID NO: 1006-1008 được dự đoán là sẽ được tự động kích hoạt trong quá trình biểu hiện. Các protein nêu trong SEQ ID NO: 1017 và 1018 được kích hoạt bằng cách xử lý SUMO protease. Để kích hoạt cấu trúc SUMO-u-PA, thông thường 10 đơn vị SUMO protease trên 1 mg protein đã được thêm vào và để ủ qua đêm ở 4 ° C. Tinh chế thêm trên cột chelation niken của HisTrap sẽ loại bỏ hiệu quả nhóm SUMO được gắn thẻ của His.

SEQ ID NO:	Trình tự hoạt hóa	Chiến lược hoạt hóa
1004	uPA wt w/ Cys	Điều trị plasmin
1005	uPA chiều dài đầy đủ w/ Cys	Điều trị plasmin
1006	Không có trình tự hoạt hóa	Phân cắt tín hiệu tiết trong biểu hiện tạo thành proteaza hoạt hóa
1007	Không có trình tự hoạt hóa	Phân cắt tín hiệu tiết trong biểu hiện tạo thành proteaza hoạt hóa

SEQ ID NO:	Trình tự hoạt hóa	Chiến lược hoạt hóa
1008	Không có trình tự hoạt hóa	Phân cắt tín hiệu tiết trong biểu hiện tạo thành proteaza hoạt hóa
1009	trình tự hoạt hóa C3	trình tự C3 tự hoạt hóa sau biểu hiện
1010	uPA Furin w/o Cys	Hoạt hóa furin trong biểu hiện; hoạt hóa không cần thiết trong quá trình xử lý xuôi dòng
1011	uPA WT chiều dài đầy đủ w/ Cys	Điều trị plasmin
1012	Không có trình tự hoạt hóa	Phân cắt tín hiệu tiết trong biểu hiện tạo thành proteaza hoạt hóa
1013	Không có trình tự hoạt hóa	Phân cắt tín hiệu tiết trong biểu hiện tạo thành proteaza hoạt hóa
1014	Furin có Cys	Hoạt hóa nội bào bởi Furin trong biểu hiện; hoạt hóa không cần thiết trong quá trình xử lý xuôi dòng
1015	uPA có Cys	Điều trị plasmin
1016	Furin không có Cys	Hoạt hóa nội bào bởi Furin trong biểu hiện; hoạt hóa không cần thiết trong quá trình xử lý xuôi dòng
1017	SUMO	Điều trị SUMO proteaza
1018	SUMO	Điều trị SUMO proteaza

E. Đo hoạt động của Enzyme

Hoạt tính cụ thể về thể tích của chất nổi bề mặt expi293 HEK chứa protein dung hợp u-PA trên peptit C3 FRET của người 40 μM được đánh giá như mô tả trong ví dụ 15. Tốc độ ban đầu được điều chỉnh độ pha loãng nội suy (mẫu nM EDANS/phút/μL) được tính toán. Protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1004, 1005, 1008 và 1011-1013 thể hiện không có hoạt tính. Protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1006, 1007, 1009 và 1010 đã chứng minh hoạt tính của u-PA proteaza. u-PA biến đổi với trình tự hoạt hóa furin ở đầu tận N thành u-PA với sự dung hợp Ig FC ở đầu tận C (được nêu trong SEQ ID NO: 1010) thể hiện hoạt tính cao nhất. Kết quả được nêu trong bảng dưới đây.

SEQ ID NO.	Hoạt tính (nM EDANS/min/µL mẫu)	Có thể tự hoạt hóa	Không hoạt tính với chuột C3
1004	-0,1		
1005	-0,1		
1006	3,7	X	X
1007	3,2	X	X
1008	0,3	X	
1009	2,7	X	
1010	56,0	X	
1011	-0,1		
1012	0,0	X	
1013	0,1	X	

F. Tinh chế ái lực

Protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1010 và 1011 có biểu hiện lớn nhất theo đánh giá của phương pháp thấm Western và ELISA. Các protein dung hợp u-PA-Fc biến thể Furin và protein dung hợp uPA-Fc có chiều dài đầy đủ được nêu trong SEQ ID NOs: 1010 và 1011, tương ứng là protein A có ái lực được tinh chế bằng cách sử dụng các điều kiện khuyến nghị của nhà sản xuất (GE Healthcare).

G. Tinh chế và đánh giá hoạt động của protein dung hợp biểu hiện cao

Sau khi tinh chế ái lực, nồng độ protein được đánh giá bằng độ hấp thụ ở 280 nm và bằng ELISA u-PA (xem ví dụ 15), trong khi độ tinh khiết được đánh giá bằng điện di trên gel SDS-PAGE và sắc ký loại trừ kích thước phân tích (SEC), như được mô tả ở trên trong ví dụ 14. Cả hai protein dung hợp đều được biểu hiện. Độ tinh khiết, khi được đánh giá bằng điện di và nhuộm gel, và bằng sắc ký loại trừ kích thước phân tích (SEC), được coi là kém đối với protein dung hợp có trình tự được quy định trong SEQ ID NO: 1010 (u-PA Furin w/o Cys). Độ tinh khiết bằng điện di trên gel được coi là tốt cho protein dung hợp được nêu trong SEQ ID NO: 1011 (WT uPA w/Cys có chiều dài đầy đủ). Kết quả được nêu trong bảng dưới đây:

SEQ ID NO.	Cột	Tổng thể tích (mL)	Nồng độ (mg/mL)		Tổng sản lượng protein (mg)		Độ tinh khiết bằng Gel	Độ tinh khiết bằng SEC
			A280	ELISA	A280	ELISA		
1010	ProA	8,6	4,23	0,60	36,38	5,19	Kém	Kém
1011	ProA	13,6	1,69	1,04	22,98	14,09	Tốt	Kém

Hoạt tính enzym u-PA sau khi tinh chế ái lực được đánh giá trong thử nghiệm Peptide C3 FRET ở người như được mô tả ở trên trong Ví dụ 15. Kết quả được trình bày trong bảng dưới đây:

SEQ ID NO.	Hoạt tính cụ thể về thể tích (nmol/min/mL)	A280: Hoạt tính cụ thể enzym (nmol/min/mg)	A280: Hoạt tính tương đối với u-PA SEQ ID NO: 21	ELISA: Hoạt tính cụ thể enzym (nmol/min/mg)	ELISA: Hoạt tính tương đối với miền proteaza u-PA biến thể (SEQ ID NO 21)
1010	466,81	110,36	2%	773,05	45%
1011	0,10	0,06	0%	0,10	0%

Hoạt tính của enzym u-PA sau khi tinh chế ái lực được đánh giá trên thử nghiệm peptit C3 FRET của người như được mô tả ở trên trong ví dụ 15. Hoạt tính của enzym được đánh giá sau khi hoạt hoá plasmin như được mô tả ở trên trong ví dụ 14. Kết quả được nêu trong bảng dưới đây:

SEQ ID NO.	Hoạt tính cụ thể enzym (nmol/min/mg)	Hoạt tính tương đối (nmol/min/mg) với u-PA SEQ ID NO:21	MW	Hoạt tính cụ thể enzym (nmol/min/nmol)	Hoạt tính tương đối (nmol/min/nmol) so với u-PA SEQ ID NO:21
21	692	100%	28429	19,7	100%
1011	198	29%	144385	14,3	73%
1015	178	26%	95301	20,2	103%

H. Mô tả protein dung hợp với polypeptit u-PA biến đổi phân cắt C3

Các protein dung hợp với polypeptit u-PA được mô tả dưới đây. Trình tự làm ví dụ được cung cấp trong cuộc thảo luận sau đây.

1. Miền xúc tác

Miền xúc tác (miền proteaza) có thể là miền bất kỳ trong số các miền protease của polypeptit u-PA đã sửa đổi được đề xuất trong bản mô tả này (xem Ví dụ 2, Bảng 14, cung cấp ED_{50} cho miền protease có chứa các sửa đổi khác nhau như được mô tả trong bản mô tả này và trong các Ví dụ), đặc biệt là bất kỳ với ED_{50} nhỏ hơn 100 nM, như được mô tả trong Ví dụ 2, hoặc nhỏ hơn 50 nM, 30 nM hoặc 10 nM. Ví dụ về miền protease uPA được sửa đổi là miền được nêu trong SEQ ID NO: 21, ngoại trừ, khi sử dụng nó để kích hoạt tạo ra polypeptit hai chuỗi, cặn 122 (bằng cách đánh số chymotrypsin) là C, không phải S như trong SEQ ID NO: 21. Tab Các miền protease polypeptide uPA được sửa đổi:

SEQ ID NO: 987: IIGGEFTTIE NQPWFAAIYQ RYEGGSEYYR CGGSLISPCWVISATHCFIP QPKKEDYIVY LGRSRLNSNT QGEMKFEVEN LILHKDYSAD IAAQHNDIALLKIRSKEGRC AQPSRTIQTI CLPSMYNDPQ FGTSCEITGF GKENSTDRLY PEQLKMTVVKLISHRECQQP HYYGSEVTTK MLCAADPQWK TDSCQGDSGG PLVCSLQGRM LTGIVSWGRGCALKDKPGV YTRVSHFLPW IRSHTKEENG LAL;

Miền proteaza polypeptit uPA biến đổi SEQ ID NO: 21 chứa đột biến C122S: IIGGEFTTIENQPWFAAIYQRY EGGSEYYRCG GSLISPCWVI SATHCFIPQP KKEDYIVYLG RSRLNSNTQGEMKFEVENLI LHKDYSADIA AQHNDIALLK IRSKEGRCAQ PSRTIQTISL PSMYNDPQFGTSCEITGFGK ENSTDRLYPE QLKMTVVKLI SHRECQQPHY YGSEVTTKML CAADPQWKTDSCQGDSGGPL VCSLQGRMTL TGIVSWGRGC ALKDKPGVYT RVSHFLPWIR SHTKEENGLAL chứa thay thế axit amin so với miền proteaza polypeptit uPA tự nhiên SEQ ID NO: 2: IIGGEFTTIE NQPWFAAIYR RHRGGSVTYV CGGSL[**I/M**]SPCWVISATHCFID YPKKEDYIVY LGRSRLNSNT QGEMKFEVEN LILHKDYSAD TLAHHNDIALLKIRSKEGRC AQPSRTIQTI CLPSMYNDPQ FGTSCEITGF GKENSTDYLY PEQLKMTVVKLISHRECQQP HYYGSEVTTK MLCAADPQWK

TDSCQGDSGG PLVCSLQGRM TLTGIVSWGRGCALKDKPGV YTRVSHFLPW IRSHTKEENG LAL;

hoặc so với miền proteaza trong đó C ở gốc 122 (bằng cách đánh số chymotrypsin) là S như được nêu trong SEQ ID NO:5:

IIGGEFTTIENQPWFAAIYRRHRGGSVTYVCGGSLISPCWVISATHCFIDYPKKE DYIVYLGRSRLNSNTQGEMKFEVENLILHKDYSADTLAHHNDIALLKIRSKEG RCAQPSRTIQTISLPSMYNDPQFGTSCEITGFGKENSTDYLYPEQLKMTVVKLIS HRECQQPHYYGSEVTTKMLCAADPQWKTDSCQGDSGGPLVCSLQGRMTLTG IVSWGRGCALKDKPGVYTRVSHFLPWIRSHTKEENGLAL.

Như được thể hiện trong bản mô tả này, polypeptit u-PA được biến đổi, thể hiện hoạt tính phân giải protein và các đặc tính sinh hóa đã thay đổi so với u-PA bản địa. Các polypeptit u-PA được sửa đổi để tăng hoạt tính phân cắt C3, như được mô tả trong bản mô tả này và giảm hoạt tính phân cắt cơ chất ban đầu của chúng.

2. Tín hiệu tiết

Để đảm bảo sự tiết ngoại bào của polypeptit u-PA biến đổi trong quá trình biểu hiện protein, một tín hiệu bài tiết có thể được đưa vào cấu trúc để tiết trực tiếp polypeptit được mã hóa khi biểu hiện. Nhiều biên niên sử như vậy được biết đến với những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực nghệ thuật. Chúng bao gồm trình tự tín hiệu u-PA tự nhiên và các tín hiệu khác, như tín hiệu tiết mKLC (SEQ ID NO: 999 (METDTLLLWVLLLWVPGSTG)) hoặc trình tự tín hiệu tiết IL2 của người (SEQ ID NO: 1000 (MYRMQLLSCI ALSLALVTNS) và các tín hiệu khác được minh chứng trong bản mô tả này Các trình tự tín hiệu thường xảy ra trên đầu tận cùng N của polypeptide để tiết trực tiếp; chúng bị loại bỏ bởi tế bào chủ.

3. Đối tác dung hợp

Ngoài thay thế, chèn hoặc xóa axit amin, biến đổi bổ sung có thể được bổ sung vào polypeptit uPA để tạo ra protein dung hợp hoặc khảm. Nhiều đối tác dung hợp và tính chất của chúng được biết đến với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Chúng bao gồm, ví dụ, đối tác dung hợp có thể multime hóa, đối tác có thể làm tăng thời gian bán hủy trong huyết thanh và đối tác làm thay đổi tính chất liên kết hoặc nhắm đích

polypeptit. Ví dụ, polypeptit uPA biến đổi và tự nhiên có thể được liên kết với mảnh kháng thể hoặc miền multime hoá như vùng Fc của polypeptit IgG1 globulin miễn dịch (SEQ ID NO: 992 (DKT HTCPPCPAPE LLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SRDELTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPG)) hoặc Collagen II scFv (SEQ ID NO: 993 (QVQLQQPGADL VRPGVSVKLSCKASGYTFTS YWMNWVKQRP GQGLEWIGMI HPSDSETRLS QKFKDKATLT VDKSSSTAYMQLSSPTSEDS AVYYCARLKP GGTWFAYWGQ GTLVTVSAGG GGSGGGGSGG GGSGGSDIVLTQSPASLTVS LGQRATISCR ASKSVDSYGN SFMEWYQQKP GQPPKLLIYR ASNLESGIPARFSGSGSRTD FTLTINPVEA DDVATYYCQQ SNEDPYTFGG GTKLEIK)) để thay đổi đặc tính dược lý của polypeptit u-PA.

Để thay đổi tính chất dược lý, polypeptit uPA, ví dụ, có thể được dung hợp với phối tử hoặc polypeptit, như kháng thể hoặc protein khác, như albumin huyết thanh của người (HSA; SEQ ID NO: 991):
DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQ HKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFF AKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGER AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADL AKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKD VCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAAD PHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV STPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVS DRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKL VAASQAALGL), hoặc miền liên kết axit hyaluronic (HABD), như TSG-6 (SEQ ID NO: 994) ERAAGVYHREA RSGKYKLTYAEAKAVCEFEG GHLATYKQLE

AARKIGFHVC AAGWMAKGRV GYPIVKPGPN CGFGKTGIIDYGIRLNRSER WDAYCYNPHA KE.

Thông thường, hoạt tính proteaza u-PA vẫn hoạt động về mặt chức năng trong protein dung hợp thu được, nhưng peptit dung hợp có thể thay đổi các thông số dược động học và dược lực học của polypeptit u-PA. Các protein dung hợp khác có chứa polypeptide biến đổi u-PA có thể được tạo ra với yếu tố tăng trưởng hoặc thụ thể để thay đổi các đặc tính dược động học và dược lực học.

4. Trình tự hoạt hóa

Polypeptit u-PA có thể được tạo ra ở dạng không hoạt động (tiền enzym) và được biến đổi sau chuyển hóa thông qua sự phân cắt protein để tạo ra dạng trưởng thành và được hoạt hóa. Để làm như vậy, một trình tự hoạt hóa được đưa vào polypeptit u-PA tự nhiên hoặc đã được sửa đổi để ngăn chặn hoạt tính enzym của nó. Sau khi biểu hiện protein, sự phân cắt của trình tự hoạt hóa tạo ra một protein u-PA trưởng thành. Ví dụ về trình tự kích hoạt, bao gồm, nhưng không giới hạn, trình tự kích hoạt u-PA kiểu hoang dã (SEQ ID NO: 997 (QCGQKTLRPRFK) hoặc SEQ ID NO: 998 (QSGQKTLRPRFK)) hoặc trình tự phân tách furin (SEQ ID NO: 995, 996, 1041, hoặc 1044 (như QCGQKTLRRRKR, hoặc QSGQKTLRRRKR, hoặc QSG KTLRRKR, hoặc QSGQKTLRRKR). Một liên kết disulfide có thể được duy trì giữa xystein trong trình tự kích hoạt và xystein (C122 u bằng cách đánh số chymotrypsin) Miền xúc tác -PA: Sau khi phân cắt vị trí hoạt hóa, phân tử được hoạt hóa vẫn giữ liên kết cộng hóa trị giữa kích hoạt đoạn đầu N hoặc miền đầu cuối N đầy đủ.

5. Gen liên kết

Để nối polypeptit u-PA với các trình tự polypeptit khác, trình tự ngắn, linh hoạt của axit amin (trình tự liên kết) được sử dụng. Ví dụ của trình tự liên kết bao gồm nhưng không bị giới hạn ở GGSSGG hoặc GGGGS hoặc AGS (như được nêu trong SEQ ID NO: 1001-1003 và 1024-1030), cũng như được thảo luận trong mô tả chi tiết. Liên kết dài hơn với nối của các trình tự này lặp lại cũng được bao gồm sao cho trình tự liên kết có trình tự $(GGSSGG)_{n+1}$, trong đó n là 0 hoặc số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 20. Các trình tự liên kết khác được nêu trong danh mục trình tự và trong phần mô tả chi tiết.

6. Biến đổi khác của u-PA

Các trình tự peptit khác như 6x His SUMO (như các trình tự được nêu trong SEQ ID NOS: 990 và 1031-1033 (DGHHHHHHGS LQDSEVNQEA KPEVKPEVKP ETHINLKVSD GSSEIFFKIK KTTPLRRLME AFAKRQGKEM DSL(**T**/**R**) FLYDGI (**E**/**R**) IQADQ (**T**/**A**)PED LDMEDNDIIE AHREQIGG)) có thể được thêm vào để tạo điều kiện thuận lợi cho việc biểu hiện, tiết hoặc tinh chế các polypeptit u-PA. Sự biến đổi hóa học và sau chuyển hóa bổ sung đối với polypeptit u-PA đã thay đổi hoặc tự nhiên có thể bao gồm nhưng không giới hạn ở sự liên hợp với polyme như PEGyl hóa, PASyl hóa và sialyl hóa để thay đổi các đặc tính dược lực học của polypeptit u-PA.

7. Polypeptit u-PA biến đổi làm ví dụ với dung hợp đầu tận N

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Đối tác dung hợp (gốc số)	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa (gốc số)	Miền xúc tác (gốc số)	Miền đầu tận N khác (gốc số)
1004	Fc-u-PA (SEQ ID NO: 987)	METD TLLLW VLLL WVPG STG (1-20)	DKTHTC PPCP APELLGG PSV FLFPPKP KDT LMISRTP EVT CVVVDV SHED PEVKFN WYVD GVEVHN AKTK PREEQY NSTY RVVSVL TVLH QDWLNG KEYK CKVSNK ALPA PIEKTISK AK GQPREPQ VYT LPPSRDE	AGS (247-249)	QCGQ KTLRP RFK (250-261)	IIGGEFTTIEN QPWFAAIYQ RYEGGSEYY RCGGSLISPC WVISATHCFI PQPKKEDYIV YLGRSRLNS N TQGEMKFEV ENLILHKDYS ADIAAQHND IA LLKIRSKEGR CAQPSRTIQT ICLPSMYNDP QFGTSCEITG FGKENSTDR L YPEQLKMTV VKLISHRECQ QPHYYGSEV TTKMLCAAD PQW KTDSCQGDS GGPLVCSLQ GRMTLTGIV SWGRGCALK	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Đối tác dung hợp (gốc số)	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa (gốc số)	Miền xúc tác (gốc số)	Miền đầu tận N khác (gốc số)
			LTK NQVSLT CLVK GFYPSDI AVE WESNGQ PENN YKTTPPV LDS DGSFFLY SKL TVDKSR WQQG NVFSCSV MHE ALHNHY TQKS LSLSPG (21-240)			DKPG VYTRVSHFL PWIRSHTKEE N GLAL (262-514)	
1005	N-term u-PA-u-PA (SEQ ID NO: 987)	METD TLLLW VLLL WVPG STG (1-20)	-	-	QCGQ KTLRP RFK (167-178)	IIGGEFTTIEN QPWFAAIYQ RYEGGSEYY RCG GSLISPCWVI SATHCFIPQP KKEDYIVYL GRSRLNSNT QG EMKFEVENLI LHKDYSADI AAQHNDIAL LKIRSKEGRC	SNELHQ VPSN CDCLNG GTCV SNKYFS NIHW CNCPKK FGGQHC EIDKSKT CYEGNG HFYRGK ASTDTM GRPCLP

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Đối tác dung hợp (gốc số)	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa (gốc số)	Miền xúc tác (gốc số)	Miền đầu tận N khác (gốc số)
						AQPSRTIQTI CLPSMYNDP QFGTSCEITG FGK ENSTDRLYPE QLKMTVVKL ISHRECQQPH YYGSEVTTK MLCAADPQ WKTD SCQGDSGGP LVCSLQGRM TLTGIVSWG RGCALKDKP GVYTRVSHF LPWIRSHTKE ENGLAL 179-431	WNSATV LQQTYH AHRSDA LQLGLG KHNYCR NPDNRR RPWCYV QVGLKP LVQECM VHDCAD GKKPSSP PEELKF 21-166

* miền proteaza u-PA của SEQ ID NO: 21 (có và không có thay thế C122S)

Fig. 2 đưa ra các sơ đồ của polypeptit u-PA với sự dung hợp ở đầu N, như polypeptit dung hợp ở đầu N được nêu trong SEQ ID NOS: 1004 và 1005.

8. Polypeptit u-PA biến đổi làm ví dụ với dung hợp ở đầu tận C

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
1006	uPA (SEQ ID NO: 21) - Fc (No PP)	MYRMQLLSCIALSLALVTNS (1-20)	IIGGEFTTIENQPWFAAIYQRYEGGSEYYRCGGSLISPCWVISATHCFIPQPKKEDYIVYLGRSRLNSNTQGEMKFEVENLILHKDYSADIAAQHNDIALLKIRSKEGRCAQPSRTIQTISLPSMYNDPQFGTSCEITGFGKENSTDRLYPEQLKMTVVKLISHRECQQPHYYGSEVTTKMLCAADPQWKTDSCQGDSGGPLVCSLQGRMTLTGIVSWGRGCALKDKPGVYTRVSHFLPWIRSHTKEENGLAL	GGSSGG (274-279)	Không	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (280-505)	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			(21-273)				
1007	uPA (SEQ ID NO: 21)-HSA (No PP)	MYRMQLLSCIALSLALVTNS (1-20)	IIGGEFTTIE NQPWFAAIYQ RYEGGSEYYR CGGSLISPCW VISATHCFIP QPKKEDYIVY LGRSRLNSNT QGEMKFEVEN LILHKDYSAD IAAQHNDIAL LKIRSKEGRC AQPSRTIQTI SLPSMYNDPQ FGTSCEITGF GKENSTDRLY PEQLKMTVVKLIS HRECQQP HYYGSEVTTK MLCAADPQWK	GGSSGG (274-279)	Không	DAHKSEVAHRFKDL GEENFKALVLIAFAQ YLQQCPFEDHVKLV NEVTEFAKTCVADE SAENCDKSLHTLFG DKLCTVATLRETYG EMADCCAKQEPERN ECFLQHKDDNPNLP RLVRPEVDVMCTAF HDNEETFLKKYLYE IARRHPYFYAPELLFF AKRYKAAFTECCQA ADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKA WAVARLSQRFPKAE FAEVSKLVTDLTKV HTECCHGDLLECAD DRADLAKYICENQD	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			TDSCQG DSGG PLVCSL QGRM TLTGIVS WGRGC ALKDKP GV YTRVSH FLPW IRSHTKE ENG LAL (21-273)			SISSKLKE CCEKPLL EKSHCIAE VENDEMP ADLPSLA ADFVESK DVCKNYA EAKDVFL GMFL YEYARRH PDY SVVLLLR LAKTYET TLEKCCA AADPHEC YAKVFDE FKPLVEEP QNLIKQN CELFEQL GEYKFQN ALLVRY TKKVPQV STP TLVEVSR NLGKVGS KCCKHPE AKRMPCA ED YLSVVLN QLCVLHE KTPVSD RVTKCCT ESL VNRRPCF SALEVDE TYVPKEF NAETFTF HA DICTLSEK ERQIKKQ TALVELV KHKPKAT KEQLKAV MDDFAAF	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
						VEKCCKA DDKETCF AEEGKKL VAASQA ALGL (280-864)	
1008	uPA (SEQ ID NO: 21)-C2scFv (No PP)	MYRM QLLSCI ALSLA LVTNS (1-20)	IIGGEFT TIE NQPWFA AIYQ RYEGGS EYYR CGGSLIS PCW VISATHC FIPQPKK EDYIVY LGRSRL NSNTQG EMKFEV ENLILHK DYSADI AAQHND IALLKIR SKEGRC AQPSRTI QTI SLPSMY NDPQ FGTSCEI TGFGKE NSTDRL YPEQLK MTVVKL ISHRECQ QPHYYG SEVTTK MLCAAD PQWKTD SCQGDS GGPLVC	GGSSG G (274-279)	Không	QVQLQQP GADLVRP GVSVKLS CKASGYT FTS YWMNWV KQRPGQG LEWIGMI HPSDSETR LS QKFKDKA TLTVDKS SSTAYMQ LSSPTSED S AVYYCAR LKPGGTW FAYWGQ GTLVTVS AGG GGSGGGG SGGGGSG GSDIVLTQ SPASLTVS LGQRATIS CRASKSV DSYGN SFMEWYQ QKP GQPPKLLI YRASNLE SGIPARFS GSGSRTD FTLTINPV EADDVAT	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			SLQGRM TLTGIVS WGRGC ALKDKP GVYTRV SHFLPWI RSHTKE ENG LAL (21-273)			YYCQQ SNEDPYT FGG GTKLEIK (280-527)	
100 9	uPA (SEQ ID NO: 21)-HA BD (No PP)	MYRM QLLSCI ALSLA LVTNS (1-20)	IIGGEFT TIENQP WFAAIY QRYEGG SEYYRC GGSLISP CWVISA THCFIPQ PKKEDY IVYLGRS RLNSNT QGEMKF EVENLIL HKDYSA D IAAQHN DIAL LKIRSKE GRC AQPSRTI QTI SLPSMY NDPQ FGTSCEI TGF GKENST DRLY PEQLKM TVVKLIS HRECQQ P HYYGSE VTTK MLCAAD	GGSSG G (274-279)	Không	E RAAGVYH REA RSGKYKL TYA EAKAVCE FEG GHLATYK QLE AARKIGF HVC AAGWMA KGRV GYPIVKP GPN CGFGKTG IID YGIRLNRS ER WDAYCY NPHA KE (280-382)	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			PQWK TDSCQG DSGG PLVCSL QGRM TLTGIVS WGRGC ALKDKP GV YTRVSH FLPW IRSHTKE ENG LAL (21-273)				
1010	uPA (SEQ ID NO: 21)-Fc (Furin)	METDT LLLWV LLLWV PGSTG (1-20)	IIGGEFT TIENQP WFAAIY QRYEGG SEYYRC GGSLISP CWVISA THCFIPQ PKKEDY IVYLGRS RLNSNT QGEMKF EVENLIL HKDYSA DIAAQH NDIALL KIRSKEG RCAQPS RTIQTIS LPSMYN DPQFGT SCEITGF GKENST DRLYPE QLKMTV VKLISHR ECQQPH YYGSEV TTKMLC	GGSSG G (285-290)	QSGQ KTLR RK R (21-31)	DKTHTCP PCP APELLGG PSV FLFPPKPK DT LMISRTPE VT CVVVDVS HED PEVKFNW YVD GVEVHNA KTK PREEQYN STY RVVSVLT VLH QDWLNG KEYK CKVSNKA LPA PIEKTISK AK GQPREPQ VYT LPPSRDEL TK NQVSLTC	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			AADPQ WKTDSC QGDSGG PLVCSL QGRMTL TGIVSW G RGCALK DKPG VYTRVS HFLP WIRSHT KEEN GLAL (32-284)			LVK GFYPSDIA VE WESNGQP ENN YKTTPPV LDS DGSFFLYS KL TVDKSRW QQG NVFSCSV MHE ALHNHYT QKS LSLSPG (291-516)	
1011	uPA N-Term-uPA (SEQ ID NO: 987) - Fc	METDT LLLWV LLLWV PGSTG (1-20)	IIGGEFT TIENQ PWFAAI YQRYEG GSEYYR CGGSLIS PCWVIS ATHCFIP QPKKED YIVYLG RSRLNS NTQGEM KFEVEN LILHKD YSADIA AQHNDI ALLK IRSKEGR CAQ PSRTIQT ICLPSMY NDPQFG TSCEITG FGKENS TDRLYP EQLKMT	GGSSG G (432-437)	QCGQ KTLR PRFK (167-178)	DKTHTCP PCP APELLGG PSV FLFPPKPK DT LMISRTPE VT CVVVDVS HED PEVKFNW YVD GVEVHNA KTK PREEQYN STY RVVSVLT VLH QDWLNG KEYK CKVSNKA LPA PIEKTISK AK GQPREPQ VYT	SNELHQV PSNCDCL NGGTCV SNKYFSN IHW CNCPKKF GGQHCEI DKSKTC YEGNGH FYRG KASTDT MGRPCLP WNSATV LQQTYH AHRSD ALQLGL GKHNYC RNPDNR RRPWCY VQVGLK PLVQEC MVHD CADGKK PSSP PEELKF

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			VVKLIS HRECQQ PHYYGS EVTTKM LCAADP QWKTDS CQGDSG GPLVCS LQGRMT LTGIVS WGRGC ALKDKP GVYTRV SHFLPWI RSHTKE ENGLA L (179-431)			LPPSRDEL TK NQVSLTC LVK GFYPSDIA VE WESNGQP ENN YKTTPPV LDS DGSFFLYS KL TVDKSRW QQG NVFSCSV MHE ALHNHYT QKS LSLSPG (438-663)	(21-166)
1012	uPA WT với C12 2S-Fc (No PP)	MYRM QLLSCI ALSLA LVTNS (1-20)	IIGGEFT TIENQP WFAAIY RRHRGG SVTYVC GGSLMS PCWVIS ATHCFID YPKKED YIVYLG RSRLNS NTQGEM KFEVEN LILHKD YSADTL AHHNDI AL LKIRSKE GRCAQP SRTIQTI SLPSMY NDPQFG TSCEITG	GGSSG G (274-279)	Không	DKTHTCP PCPAPELL GGPSV FLFPPKPK DT LMISRTPE VTCVVVD VSHED PEVKFNW YVD GVEVHNA KTKPREE QYNSTY RVVSVLT VLH QDWLNG KEYKCKV SNKALPA PIEKTISK AKGQPRE PQVYTLP PSRDELT KNQVSLT	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			FGKENS TDYLYP EQLKMT VVKLIS HRECQQ PHYYGS EVTTKM LCAADP QWKTDS CQGDSG GPLVCS LQGRMT LTGIVS WGRGC ALKDKP GV YTRVSH FLPW IRSHTKE ENG LAL (21-273)			CLVKGFY PSDIAVE WESNGQP ENN YKTTPPV LDSDGSFF LYSKLTV DKSRWQ QG NVFSCSV MHEALHN HYTQKS LSLSPG (280-505)	
1013	uPA WT với C122S - HSA (No PP)	MYRM QLLSCI ALSLA LVTNS (1-20)	IIGGEFT TIENQP WFAAIY RRHRGG SVTYV CGGSLM SPCW VISATHC FID YPKKED YIVY LGRSRL NSNT QGEMKF EVEN LILHKD YSAD TLAHHN DIAL LKIRSKE GRC AQPSRTI	GGSSG G (274-279)	Không	DAHKSEV AHRFKDL GEENFKA LVLIAFAQ YLQQCPF EDHVKLV NEVTEFA KTCVADE SAENCDK SLHTLFG DKLCTVA TLR ETYGEMA DCCAKQE PERNEC FLQHKDD NPN LPRLVRPE VDVMCT AFHDNE ETFLKKY LYE	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			QTI SLPSMY NDPQ FGTSCEI TGF GKENST DYLY PEQLKM TVVKLIS HRECQQ P HYYGSE VTTK MLCAAD PQWK TDSCQG DSGG PLVCSL QGRM TLTGIVS WGRGC ALKDKP GV YTRVSH FLPW IRSHTKE ENG LAL (21-273)			IARRHPYF YAPELLFF AKRYKAA FTECCQA ADKAACL LPKLDEL RDEGKAS SAKQRLK CASLQKF GERAF KAWAVA RLSQ RFPKAEF AEVSKLV TDLTKVH TECCHGD LLECADD RADLAKY ICENQDSI SSKLKEC CEKPLLE KSHCIA EVENDEM PAD LPSLAAD FVESKDV CKNYAEA KDVFLGM FL YEYARRH PDYSVVL LLRLAKT YETTLEK CCAAADP HECYAKV FDEFKPL VEEPQNLI KQNCELF EQLGEY KFQNALL VRY TKKVPQV STPTLVEV SRNLGKV	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
						GSKCCKH PEAKRMP CAEDYLS VVLNQLC VLHEKTP VSDRVTK CCTESLV NRRPCFS ALEVDET YVPKEFN AETFTFH ADICTLSE KERQIKK QTALVEL VKHKPKA TKEQLKA VMDDFA AFVEKCC KADDKET CFAEE GKKLVAA SQAALGL (280-864)	
1036	uPAN-term-uPA (SEQ ID NO: 987)-Fc (Furin)	METDTLLLWVLLLWVPGSTG (1-20)	IIGGEFTTIENQPWFAAIYQRYEGGSEYYRCGGSLISPCWVISATHCFIPQPKKEDYIVYLGRSRLNSNTQGEMKFEVENLILHKDYSADIAAQHNDIALLKIRSKEGRCAQPSRTIQTIC	GGSSGG (432-437)	QCGQKTLRRRKR (167-178)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE	SNELHQVPSNCDCLNGGTCVSNKYFSNIHWCNCPKKFGGQHCEIDKSKTCYEGNGHFYRGKASTDTMGRPCLPWNSATVLQQTYHAHRSDALQLGLGKHNYCRNPDNRRRPWCYVQVGLKPLVQEC

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			LPSMYN DPQFGT SCEITGF GKENST DRLYPE QLKMTV VKLISHR ECQQPH YYGSEV TTKMLC AADPQ WKTDSC QGDSGG PLVCSL QGRMTL TGIVSW GRGCAL KDKPGV YTRVSH FLPWIRS HTKEEN GLA L (179-431)			PQVYTLP PSRDELT KNQVSLT CLVKGFY PSDIAVE WESNGQP ENN YKTTPPV LDSDGSFF LYSKLTV DKSRWQ QG NVFSCSV MHEALHN HYTQKS LSLSPG (438-663)	MVHDCA DGKKPSS PPEELKF (21-166)
1014	uPA N-term - uPA (SEQ ID NO: 987) - HSA (Furin)	METDT LLLWV LLLWV PGSTG (1-20)	IIGGEFT TIENQ PWFAAI YQRY EGGSEY YRCG GSLISPC WVI SATHCFI PQP KKEDYI VYLGRS RLNSNT QG EMKFEV ENLI LHKDYS ADIA AQHNDI ALLK	GGSSG G (432-437)	QCGQ KTLR RRKR (167-178)	DAHKSEV AHRFKDL GEENFKA LVLIAFAQ YL QQCPFED HVKLVNE VTEFAK TCVADES AEN CDKSLHT LFGDKLC TVATLRE TYGEMAD CC AKQEPER NECFLQH KDDNPN LPRLVRPE VD	SNELHQV PSNCDCL NGGTCV SNKYFSN IHWCNCP KKFGGQ HCEIDKS KTCYEG NGHFYR GKASTDT MGRPCLP WNSATV L QQTYHA HRSDAL QLGLGK HNYCRN PDNRRRP WCYVQV GLK

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			IRSKEGRCAQPSRTIQTICLPSMYNDPQFGTSCEITGFGKENSTDRLYPEQLKMTVVKLISHRECQQPHYYGSEVTTKMLCAADPQWKTDSCQGDSGGPLVCSLQGRMTLTGIVSWGRGCALKDKPGVYTRVSHFLPWIRSHTKEENGLA L (179-431)			VMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQ	PLVQECMVHDCADGKKPSSPPEELKF (21-166)

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
						N CELFEQL GEYKFQN ALLVRY TKKVPQV STP TLVEVSR NLGKVGS KCCKHPE AKRMPCA ED YLSVVLN QLCVLHE KTPVSD RVTKCCT ESL VNRRPCF SALEVDE TYVPKEF NAETFTF HA DICTLSEK ERQIKKQ TALVE LVKHKPK ATK EQLKAVM DDFAAFV EKCCKAD DKETCFA EEGKKLV AASQA ALGL (438-1022)	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
1015	uPAN-term-uPA (SEQ ID NO: 987)-HSA	METDTLLLWVLLLWVPGSTG (1-20)	IIGGEFTTIENQPWFAAIYQRYEGGSEYYRCGGSLISPCWVISATHCFIPQPKKEDYIVYLGRSRLNSNTQGEMKFEVENLILHKDYSADIAAQHNDIALLKIRSKEGRCAQPSRTIQTICLPSMYNDPQFGTSCEITGFGKENSTDRLYPEQLKMTVVKLISHRECQQPHYYGSEVTTKMLCAADPQWKTDSCQGDSGGPLVCSLQGRMTLTGIVSWGRGCALKDKP	GGSSGG (432-437)	QCGQKTLRPRFK (167-178)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCDKPLLEKSHCIAEVEKDAIPENLPPLTADFAEDKDVCKNYQEAKDAFLGSFLYEYSRRHPEYAVSVLLRLAKEYEATLEECCAKDDPHACYSTVFDKLKHLVDEPQNLIKQNCDQFEKLGEYGFQNALIVRYTRKVPQVSTPTLVEVSRSLGKVGTRCCTKPESERMPCTEDYLSLILNRLCVLHEKTPVSEKVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			GVYT RVSHFL PWIRSH TKEENG LA L 179-431			ECCEKPL LEKSHCIA EVENDEM PAD LPSLAAD FVE SKDVCKN YAEAKDV FLGMFL YEYARRH PDY SVVLLLR LAKTYET TLEKCC AAADPHE CYA KVFDEFK PLVEEPQ NLIKQNC ELFEQLG EYKFQNA LLVRYTK KVPQVST PTLVEVS RNLGKVG SKCCKHP EAKRMPC AED YLSVVLN QLCVLHE KTPVSD RVTKCCT ESL VNRRPCF SALEVDE TYVPKEF NAETFTF HA DICTLSEK ERQIKKQ TALVELV KHKPKAT KEQLKAV MDDFAAF	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
						VEKCCKA DDKETCF AEEGKKL VAASQA ALGL (438-1022)	
1016	uPA (SEQ ID NO: 21)-HSA (Furin)	METDT LLLWV LLLWV PGSTG (1-20)	IIGGEFT TI ENQPWF AAIY QRYEGG SEYY RCGGSLI SPC WVISAT HCFI PQPKKE DYIV YLGRSR LNSN TQGEMK FEVE NLILHK DYSADI AAQHND IA LLKIRSK EGRCAQ PSRTIQT ISLPSMY NDP QFGTSC EITG	GGSSG G (286-291)	QSGQ KTLR RRKR (21-32)	DAHKSEV AHRFKDL GEENFKA LVLIAFAQ YLQQCPF EDHVKLV NEVTEFA KTCVADE SAENCDK SLHTLFG DKLCTVA TLR ETYGEMA DCCAKQE PERNEC FLQHKDD NPN LPRLVRPE VDVMCT AFHDNE ETFLKKY LYE IARRHPYF YAPELLFF AKRYKAA FTECCQA ADKAACL	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			FGKENS TDRL YPEQLK MTVV KLISHRE CQQ PHYYGS EVTT KMLCAA DPQW KTDSCQ GDSGGP LVCSLQ GRMTLT GIVSWG RGCALK DKPG VYTRVS HFLP WIRSHT KEEN GLAL 33-285			LPKLDEL RDEGKAS SAKQRLK CASLQKF GERAF KAWAVA RLSQ RFPKAEF AEVSKLV TDLTKVH TECCHGD LLECADD RADLAKY ICENQDSI SSKLKEC CEKPLLE KSHCIA EVENDEM PAD LPSLAAD FVESKDV CKNYAEA KDVFLGM FL YEYARRH PDYSVVL LLRLAKT YETTLEK CCAAADP HECYAKV FDEFKPL VEEPQNLI KQNCELF EQLGEY KFQNALL VRY TKKVPQV STPTLVEV SRNLG KVGSKCC KHP EAKRMPC AEDYLSV VLNQLC	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
						VLHEKTP VSD RVTKCCT ESLVNRR PCFSALEV DETYVPK EFNAETFT FHADICTL SEKERQIK KQTALVE LVKHKPK ATKEQLK AVMDDF AAFVEKC CKADDKE TCFAEE GKKLVAA SQAALGL (292-876)	
1017	SUMO-uPA (SEQ ID NO: 21)-HSA	METDTLLLWVLLLWVPGSTG (1-20)	IIGGEFTTI ENQPWFAAIY QRYEGGSEYY RCGGSLISPC WVISATHCFI PQPKKEDYIV YLGRSRLNSN TQGEMKFEVE NLILHKDYSADI AAQHNDIA LLKIRSKEGR CAQPSRTIQT	GGSSGG (382-387)	-	DAHKSEV AHRFKDL GEENFKA LVLIAFAQ YLQQCPF EDHVKLV NEVTEFA KTCVADE SAENCDK SLHTLFG DKLCTVA TLR ETYGEMA DCCAKQE PERNEC FLQHKDD NPN LPRLVRPE VDVMCT AFHDNEE TFLKKYL YEIARRHP YFYAPEL LFFAKRY	DGHHHH HHGSLQ DSEVNQE AKPEVKP EVKP ETHINLK VSDGSSE IFFKIKKT TPLRRLM EAFAKR QGKEMD SLTFLYD GIEIQAD QTPED LDMEDN DII AHREQIG G (21-128)

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			ISLPSMY NDP QFGTSC EITG FGKENS TDRLYP EQLKMT VV KLISHRE CQQ PHYYGS EVTT KMLCAA DPQW KTDSCQ GDSG GPLVCS LQGR MTLTGI VSWG RGCALK DKPG VYTRVS HFLP WIRSHT KEEN GLAL (129-381)			KAAFTEC CQAADKA ACLLPK LDELRDE GKA SSAKQRL KCASLQK FGERAF KAWAVA RLSQ RFPKAEF AEVSKLV TDLTKV HTECCHG DLL ECADDRA DLAKYIC ENQDSI SSKLKEC CEK PLLEKSH CIAEVEN DEMPAD LPSLAAD FVE SKDVCKN YAEAKDV FLGMFL YEYARRH PDY SVVLLLR LAKTYET TLEKCCA AADPHEC YAKVFDE FKPLVEEP QNLIKQN CELFEQL GEYKFQN ALLVRY TKKVPQV STP TLVEVSR NLGKVGS	

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
						KCCKHPEAKRMPCAED YLSVVLNQLCVLHEKTPVSD RVTKCCTESL VNRRPCFSALEVDE TYVPKEFNAETFTFHA DICTLSEKERQIKKQ TALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAF VEKCCKADDKETCF AEEGKKLVAASQA ALGL (388-972)	
1018	SUMO-uPA (SEQ ID NO: 21)-Fc	METDTLLLWVLLLWVPGSTG (1-20)	IIGGEFTTI ENQPWFAAIY QRYEGGSEYY RCGGSLISPC WVISATHCFI PQPKKEDYIV YLGRSRLNSN TQGEMKFEVE NLILHKDYSADI	GGSSGG (382-387)	-	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISK	DGHHHHHHGSLQDSEVNQEAKPEVKPEVKPETHINLKVSDGSSEIFFKIKKTTPLRRLMEAFAKRQGKEMDSLTFLYDGIEIQADQTPEDLDMEDNDIIEAHREQIGG

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			AAQHNDIA LLKIRSKEGR CAQPSRTIQT ISLPSMYNDP QFGTSCEITG FGKENSTDRL YPEQLKMTVV KLISHRECQQ PHYYGSEVTT KMLCAADPQW KTDSCQGDSG GPLVCSLQGR MTLTGIVSWG RGCALKDKPG VYTRVSHFLP WIRSHTKEEN GLAL (129-381)			AKGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG (388-613)	(21-128)
1037	6xHis-sumo-uPA (SEQ ID	-	II GGEFTTIENQ PWFAAIYQRY EGGSEYYRCG GSLISPCWVI SAT		-		MGHHHHHHGS LQDSEVNQEA KPEVKPEVKP ETHINLKVSD GSSEIFFKIK KTTPLRRLME A

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
	NO: 987)		HCFIPQP KKEDYI VYLGRS RLNSNT QGEMKF EVENLIL HKDYSA DIAAQH NDIALL KIRSKEG RCAQPS RTIQTIC LPSMYN DPQFGT SCEITGF GK ENSTDR LYPE QLKMTV VKLI SHRECQ QPHY YGSEVT TKML CAADPQ WKTDSC QGDSGG PL VCSLQG RMTL TGIVSW GRGC ALKDKP GVYT RVSHFL PWIR SHTKEE NGLA L (109-361)				FAKRQG KEMDSL RFLYDGI RIQADQA PEDLDM EDNDIIE AHREQIG G (1-108)
1038	6xHis sumo-	-	II GGEFTTI ENQ PWFAAI		-		MGHHHH HHGSLQ DSEVNQE AKPEVKP

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
	uPA (SEQ ID NO: 21)		YQRY EGGSEY YRCG GSLISPC WVI SATHCFI PQP KKEDYI VYLG RSRLNS NTQGEM KFEVEN LI LHKDYS ADIA AQHNDI ALLK IRSKEGR CAQ PSRTIQT ISL PSMYND PQFGTS CEITGFG K ENSTDR LYPE QLKMTV VKLI SHRECQ QPHY YGSEVT TKML CAADPQ WKTDSC QGDSGG PL VCSLQG RMTL TGIVSW GRGC ALKDKP GVYT RVSHFL				EVKPETH INLKVSD GSSEIFFK IKKTTPL RRLMEA FAKRQG KEMDSL RFLYDGI RIQADQA PEDLDM EDNDIIE AHREQIG G (1-108)

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			PWIR SHTKEE NGLAL (109-361)				
1039	6xHis sum-uPA (SEQ ID NO: 21)-GGSCK	-	II GGEFTTIENQ PWFAAI YQRYEG GSEYYR CGGSLIS PCWVIS ATHCFIP QPKKED YIVYLG RSRLNS NTQGEM KFEVEN LILHKD YSADIA AQHNDI ALLKIRS KEGRCA Q PSRTIQT ISLPSMY NDPQFG TSCEITG FGKENS TDRLYP EQLKMT VVKLIS HRECQQ PHYYGS EVTTKM LCAADP QWKTDS CQGDSG GPLVCS LQGRMT LTGIVS WGRGC ALKDKP		-	GGSCK (362-366)	MGHHHH HHGSLQ DSEVNQE AKPEVKP EVKPETH INLKVSD GSSEIFFK IKKTTPL RRLMEA FAKRQG KEMDSL RFLYDGI RIQADQA PEDLDM EDNDIIE AHREQIG G (1-108)

Seq ID No.	Tên	Trình tự tín hiệu (gốc số)	Miền xúc tác	Trình tự liên kết (gốc số)	Trình tự hoạt hóa	Đối tác dung hợp	Miền đầu tận N khác
			GVYTRVSHFLPWIRSHTKEENGLAL (109-361)				

Fig. 3 nêu các sơ đồ của polypeptit u-PA với sự dung hợp ở đầu C, như polypeptit dung hợp ở đầu C được nêu trong SEQ ID NOS: 1006-1018 và 1036.

I. Các xét nghiệm để đánh giá lượng u-PA và hoạt động của con đường bổ thể

Dung hợp polypeptit u-PA được tạo ra sau khi chuyển nạp mã hóa vectơ pcDNA3_4 đã thay đổi và dung hợp polypeptit u-PA bản địa trong hệ thống biểu hiện của động vật có vú trong tế bào Expi293 ™.Các polypeptit u-PA biểu hiện chính xác trong các tế bào Expi293 ™ đã được tinh chế trên Ma trận ái lực HiTrap Protein A HP hoặc CaptureSelect ™ Human Albumin và được xử lý cho các xét nghiệm phân tích sinh học như u-PA ELISA để kiểm tra hiệu giá uPA hoặc sự phân cắt protein C3 FRETxét nghiệm để kiểm tra hoạt tính xúc tác polypeptit u-PA. Kết quả được trình bày trong bảng dưới đây:

SEQ ID NO:	A280	Tổng lượng protein từ 1L giống cấy'	Hiệu giá ELISA uPA (mg/L)	Hiệu giá ELISA uPA (mg/L)	Hoạt tính phân giải protein trên C3 so với A280	Hoạt động phân giải protein trên C3 so với hiệu giá ELISA uPA
1004			0,4	0,4		
1005			149,7	75,39		
1006			2,6	2,2		
1007			0,3	0,3		
1008			0,1	0,06		
1009			0,3	0,26		
1010	4,23 mg/ml	36,4 mg	17,3	15,89	110,36	773,05

SEQ ID NO:	A280	Tổng lượng protein từ 1L giống cấy'	Hiệu giá ELISA uPA (mg/L)	Hiệu giá ELISA uPA (mg/L)	Hoạt tính phân giải protein trên C3 so với A280	Hoạt động phân giải protein trên C3 so với hiệu giá ELISA uPA
1011	1,69 mg/ml	23,0 mg	19,3	21,66	0,06	0,1
1012			16,2	7,5		
1013			4,7	5,46		
1036	3,32 mg/ml	42,5 mg				
1014						
1015u	3,43 mg/ml	70,3 mg				
1015a	1,16 mg/ml	44,7 mg				
1015i						
1016						
1017	3,32 mg/ml	89,3 mg				
1018	1,10 mg/ml	11 mg				

1. Mức u-PA ELISA

Thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (ELISA) được sử dụng để đo sự có mặt của polypeptit u-PA (xem, ví dụ, ví dụ 15). Thông thường, phép đo u-PA là phép đo gián tiếp liên kết của u-PA với kháng thể bắt (PA1-36166 ở 1,0ug/mL, Invitrogen). Polypeptit u-PA bắt được sau đó được phát hiện bằng kháng thể phát hiện (PA1-36015 ở 0,25ug/mL) được nhận biết bởi kháng thể kháng dê liên hợp HRP (Rockland, 605-403-B69). Enzym HRP kích hoạt phản ứng so màu khi thêm cơ chất TMB. Sử dụng phương pháp u-PA ELISA, bốn polypeptit u-PA được xác định để biểu hiện ở mức uPA hiệu giá cao (SEQ ID NO: 1005, 1010, 1011, 1012, 1015), hai

polypeptit u-PA ở mức trung bình (SEQ ID NO: 1006 và 1013), và polypeptit u-PA nêu trong SEQ ID NO: 1004, 1007-1009 không biểu hiện.

2. Hoạt tính của enzym (peptit C3 FRET của người).

Hoạt tính phân giải protein của polypeptit uPA trên C3 ở người được đo trong ống nghiệm bằng cách sử dụng peptit C3 FRET của người RHQARASHL EDANS/DABCYL do Genscript sản xuất (lô # 94045990005/PE6379) (xem, ví dụ, Ví dụ 15). Mặt tận cùng N của peptit được đánh dấu bằng fluorophore DABCYL và phía đầu C được đánh dấu bằng fluorophore EDANS. Sự phân cắt của peptit sẽ tách cặp EDANS/DABCYL FRET để tạo ra tín hiệu huỳnh quang, tín hiệu này được đo trong đầu đọc đĩa nhiều giếng. Tốc độ tạo ra cường độ huỳnh quang được nội suy theo đường cong chuẩn EDANS để mang lại tốc độ tạo sản phẩm EDANS. Tốc độ tạo sản phẩm được nhân với hệ số pha loãng để thu được hoạt độ thể tích riêng tính bằng đơn vị nmol sản phẩm trong mỗi phút phản ứng trên mỗi mL mẫu (nmol/phút/mL). Hoạt độ thể tích cụ thể cho biết tổng lượng enzyme hoạt động trong mẫu. Hoạt độ cụ thể thứ hai được tính bằng cách chia hoạt độ riêng thể tích cho nồng độ enzym mẫu để thu được hoạt độ cụ thể của enzym tính bằng đơn vị nmol sản phẩm trên phút phản ứng trên mg enzym (nmol/phút/mg). Hoạt độ đặc hiệu của enzym cho biết hoạt tính nội tại của polypeptit uPA trong mẫu bất kể nồng độ. Sử dụng xét nghiệm hoạt tính C3 FRET của con người, polypeptit uPA được nêu trong SEQ ID NO: 1010 được chứng minh là có hoạt tính.

* * *

Vì các sửa đổi sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này nên sáng chế dự kiến chỉ bị giới hạn bởi phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Yêu cầu bảo hộ

1. Polypeptit hoạt hóa plasminogen loại urokinaza (u-PA) biến đổi, bao gồm một hoặc nhiều biến đổi axit amin, trong polypeptit u-PA không được biến đổi, được chọn từ trong số các thay thế tương ứng với R35Q, R35W, R35Y, H37E, H37Y, V41R, Y40Q, D60aP, L97bA, L97bG, T97aI, H99Q, và biến đổi axit amin bảo toàn của chúng, theo đó polypeptit u-PA biến đổi có hoạt tính và/hoặc độ đặc hiệu tăng đối với protein bổ thể so với dạng hoạt hóa không được biến đổi của polypeptit u-PA, trong đó:

biến đổi axit amin khác bất kỳ được chọn từ trong số các thay thế, chèn đoạn và xóa đoạn ở trình tự sơ cấp của polypeptit u-PA biến đổi;

polypeptit u-PA biến đổi phân cắt protein bổ thể để từ đó ức chế hoặc giảm hoạt hóa bổ thể so với polypeptit u-PA không được biến đổi mà không chứa biến đổi axit amin;

protein bổ thể là C3;

polypeptit u-PA biến đổi có hoạt tính hoặc độ đặc hiệu giảm để phân cắt trình tự cơ chất ở plasminogen so với polypeptit u-PA không được biến đổi;

polypeptit u-PA biến đổi có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% với polypeptit của bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1-6 hoặc phần có hoạt tính xúc tác của chúng;

gốc được đánh số bằng cách đánh số chymotrypsin;

polypeptit u-PA không được biến đổi chứa trình tự được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1-6, hoặc mảnh có hoạt tính xúc tác của chúng mà bao gồm (các) vị trí biến đổi axit amin; và

biến đổi bảo toàn được chọn từ trong số R35F hoặc N; H37R, Q, W hoặc F; V41K; D60aS; T97aL hoặc V; L97bS; và H99N.

2. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 1 mà phân cắt trong gốc QHARASHLG (gốc 737-745) của C3 của người (SEQ ID NO:47).

3. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 1 hoặc điểm 2 mà có hoạt tính tăng để phân cắt C3 mà lớn hơn ít nhất 3 lần polypeptit u-PA không được biến đổi chứa miền proteaza của SEQ ID NO:5, hoặc dạng tương ứng của u-PA được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1-4 và 6.

4. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 1, trong đó:

polypeptit u-PA biến đổi có ED50 để phân cắt làm bất hoạt C3 nhỏ hơn 100 nM ở thử nghiệm in vitro; và

polypeptit u-PA biến đổi có độ ổn định lớn hơn 50% sau khi ủ trong PBS, hoặc dịch lỏng cơ thể trong 7 ngày.

5. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-4, trong đó polypeptit u-PA không được biến đổi gồm trình tự của axit amin được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO:1-6.

6. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 1 mà có lên đến 20 thay thế, chèn đoạn và/hoặc xóa đoạn axit amin, so với polypeptit u-PA không được biến đổi của bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1-6 hoặc phần có hoạt tính xúc tác của chúng.

7. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 1, bao gồm một hoặc nhiều biến đổi axit amin được chọn từ trong số các thay thế tương ứng với R35Q, H37Y, V41R, Y40Q, D60aP, L97bA, T97aI và H99Q.

8. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 7, bao gồm V41R và một hoặc nhiều trong số các thay thế L97bA, R35Q, H99Q, D60aP và T97aI.

9. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 1, bao gồm thay thế V41R hoặc thay thế V41R và C122S.

10. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-9, còn bao gồm thay thế V38E.

11. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-10, bao gồm thay thế H37Y.

12. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-11, bao gồm biến đổi V38E/V41R.

13. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-12, bao gồm thay thế R35Y/H37S/V38E/V41R hoặc R35Y/H37Y/V38E/V41R.

14. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-13, bao gồm thay thế H37Y/V38E, R35Y/H37K, R35Q/H37K, R35Q/H37Y, V38E/V41R, V38E/V41R/Y149R, T39Y/V41R/D60aP/L97bA/H99Q/C122S,

T39Y/V41R/D60aP/L97bA/H99Q, T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/H99Q hoặc T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S.

15. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-14, bao gồm biến đổi axit amin R35Q/H37Y/T39Y/V41R, R35Q/H37Y/T39Y/V41R/C122S, R35Q/H37Y/T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S, hoặc R35Q/H37Y/T39Y/V41R/L97bA/H99Q.

16. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-15, bao gồm biến đổi được chọn từ:

R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L;
R35W/R36Q/H37S/V38P/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L;
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K82R/T97aI/L97bA/H99Q/K110aR/C122S/Y149R/M157K;
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/K179R;
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K92R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
F30Y/R35V/R36H/H37G/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bW/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149E/M157K;
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K92S/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61R/K62R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/K179S;
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/T97aI/L97bA/H99Q/C122S;
F30Y/R35W/R36T/H37S/V38S/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157R/Q192Y;
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K;
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61S/K62S/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
R35A/H37E/R37aG/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L;
R35W/R36Q/H37S/V38T/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151P/M157R;
F30Y/R35W/H37Y/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
V38E/T39W/V41R/D60aW/Y60bP/L97bG/H99L/C122S;

R35W/R36K/H37S/V38E/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S/Q192H;

R35Q/H37Y/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aQ/Y60bP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

I17V/F30Y/R35Q/R36H/H37W/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A;

R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192H;

F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

R35W/R36N/H37S/V38E/T39Y/Y40M/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157S;

R35Y/H37D/V38E/T39W/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K82S/T97aI/L97bA/H99Q/K110aS/C122S/Y149R/M157K;

R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/D97T/T97aE/L97bG/A98S/H99L/C122S;

F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R/M157K;

R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S;

F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/M157K;

R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T158A;

R35Q/R36H/H37Y/V38E/T39Y/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

R35W/H37P/R37aG/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

V38D/V41Q/D60aH/Y60bS/T97aW/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/R217E/K224R;

F30Y/R35W/R36H/H37P/R37aQ/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35W/R36Q/H37S/V38P/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157R;

F30H/R35W/R36T/H37S/V38P/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S;

F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K;

F30Y/R35Y/R36H/H37N/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61E/R72H/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q169K;

R35W/R36Q/H37S/V38S/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S/Q192H;

R35W/H37G/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T;

R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S;

F30Y/R35V/R36H/H37G/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/M157K;

F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S;

F30Y/R35W/R36S/H37S/V38Q/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/
M157S/Q192N;

F30Y/R35W/R36H/H37P/R37aD/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aE/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/
Y149R/M157K;

R35Q/H37Y/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

R37aS/V38E/Y40V/V41R/H99L/C122S/Y151L/R217V;

V38D/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217E;

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S;

F30Y/R35V/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

I17V/F30Y/R35Q/R36H/H37W/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K;

F30Y/R35V/R36H/H37S/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bS/T97aM/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/M157K;

R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

N26D/F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/R110dS/P114S/C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35W/R36H/H37P/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bA/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

R35L/H37D/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35W/R36H/H37P/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K;

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T158S/E167K;

R35Q/H37Y/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35Y/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/T242A;

F30Y/R35L/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A;

F30Y/R35Y/R36H/H37P/R37aQ/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bH/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

V38D/V41R/L97bR/H99E/C122S/Y151L/R217E;

H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/R217E/K224R;

R35Y/H37V/R37aW/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T;

F30Y/R35M/R36H/H37G/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bP/T97aF/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35W/R36Q/H37S/V38T/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/
Y151L/M157K/Q192T;

R35W/H37D/R37aP/V38E/T39W/V41R/D60aR/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

I17V/F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/
Y149K/M157K;

I17V/F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149H/M157K/T158A;

R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/I138V/E167K;

F30Y/R35W/R36Q/H37S/V38E/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157T/Q192H;

R35H/G37bD/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T158S;

R35H/H37P/R37aG/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

V38D/T39Y/Y40L/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217E;

F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A;

F30H/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40M/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

R35V/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40M/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

R35W/R36K/H37S/V38A/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157R/Q192T;

F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/N145S/S146V/T147M/D148G/Y149Q/L150F/M157K;

F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R/M157K;

F30Y/R35I/R36H/H37D/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

R35V/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

R35Q/H37Y/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aN/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

V38E/Y40Q/V41L/L97bG/H99Q/C122S/R217T;

R35H/V38E/T39Y/V41R/T56S/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T158S;

F30H/R35Q/H37W/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K;

R35Q/H37Y/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41K/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192A;

V38D/V41R/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217E/K224R;

F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/Y40H/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

V38D/V41L/Y60bP/T97aM/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/R217E/K224R;

F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35W/R36H/H37N/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K;

F30Y/R35W/R36K/H37S/V38D/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157R/Q192T;

V41R/H99Q/C122S/Y151L/R217V;

V38E/Y40P/V41L/L97bG/H99L/C122S/Y151Q/R217E;

V38E/Y40L/V41R/H99L/C122S/Y151L/R217S;

V38E/Y40Q/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151P/R217T;

V38E/T39Y/V41R/D60aW/Y60bP/L97bR/H99I/C122S;

R35W/H37D/R37aP/V38E/T39W/V41R/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R36H/H37F/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bD/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K;

F30Y/R35W/R36H/H37E/S37dP/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K;

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aA/Y60bP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

R36H/V38D/V41R/A96D/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/T178S/R217D;

V38D/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217A;

F30H/R35Q/R36H/H37Y/V38E/T39Y/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35W/R36K/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61E/I65T/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149K/M157K;
F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bS/T97aL/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K;
F30Y/R35Q/R36H/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aS/Y60bP/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/M157K;
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aG/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
I24N/F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40L/V41R/Y60bQ/N87D/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149K/M157K;
V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S;
F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149H/M157K/T158A;
F30Y/R35W/R36A/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61D/I65R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K;
F30Y/R35Q/R36H/H37W/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K;
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/
K187R/K223R/K224R;
R35W/R36Q/H37S/V38E/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/
M157S/Q192T;
R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/P60cS/L97bA/H99Q/C122S/I138V/E167K;
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
I17V/F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K;
R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
R35H/V38E/T39Y/V41R/T56A/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S;
F30Y/V38D/Y40F/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R;
V38E/Y40A/V41L/L97bG/H99Q/C122S/R217T;
I24T/F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K;
F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
I17V/F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A;
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41K/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T;
F30H/R35L/H37D/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/R217E;
F30Y/R35W/R36H/H37D/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aE/Y60bF/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35L/R36H/H37G/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bP/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149M/M157K;

I17V/F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K;

F30Y/R35V/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

R35W/R36H/H37N/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H;

R35V/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35M/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/M157K;

R35Q/V38D/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151L;

R37aS/V38E/Y40P/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151Q/R217T;

R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30H/V38D/V41R/A96G/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K;

T39L/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S;

F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S;

F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/S146F/M157K/Q192H/
K243Q;

Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35W/R36Q/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61L/I65V/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K;

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

R35Q/V38D/V41R/T97aS/L97bA/H99Q/C122S/Y151L;

V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V;

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35V/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bP/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149E/M157K;

R35A/H37T/R37aD/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192S;

R35S/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L;

R35S/V38D/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217Q;

F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158S;

R35Q/H37S/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R;

H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E;

R35W/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aE/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
R35Q/H37G/R37aD/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
R35Q/H37D/R37aK/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
R35Y/R36H/H37S/V38D/T39Y/V41R/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K;
R37aS/V38D/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217T;
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K;
F30Y/R35K/R36H/H37E/R37aK/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/M157K;
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aP/Y60bG/T97aI/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/M157K;
F30Y/R35W/R36Q/H37E/V38A/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61D/I65V/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149K/M157K;
F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/T56A/L97bA/H99Q/C122S/M157K;
R35N/H37T/R37aY/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
R37aH/V38E/T39Y/V41R/T56A/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T158A;
F30H/R35Q/H37T/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K;
F30H/R36L/V38E/V41R/K82R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K;
V38D/V41R/H99Q/C122S/Y151L/R217V;
R35Q/H37G/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
F30Y/R35Q/R36H/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aE/Y60bA/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/M157K;
R35Q/H37Y/R37aD/V38E/T39L/V41R/D60aE/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
F30Y/R35L/R36H/H37E/V38E/T39N/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
R36S/V38E/Y40L/V41N/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217T;
T39W/V41R/L97bG/H99Q/C122S;
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K;
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
R35S/R37aA/V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149V;
F30Y/R35W/R36H/H37Q/V38E/T39H/Y40H/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K;

F30Y/R35Q/R36H/H37Y/R37aD/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bV/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/Y151L/M157K;
F30H/R35H/H37I/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/Y151L/M157K/R217S;
V38D/T39Y/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S;
R35F/H37D/R37aN/V38E/T39Y/V41R/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
T39Y/V41R/Y60bQ/L97bG/H99Q/C122S;
T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S;
V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217E;
R36S/V38D/T39L/Y40L/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217T;
R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bV/T97aL/L97bA/H99Q/C122S/Y149L;
Y40Q/V41L/Y60bT/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
F30Y/V38E/Y40H/V41R/T56A/L97bA/H99Q/C122S/M157K/K243M;
F30Y/R36H/R37aH/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K;
F30H/R35Q/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K;
V38D/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R;
H37G/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R;
R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S;
Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/I138V/M157K;
T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S;
F30Y/R35H/R36H/H37D/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/M157K;
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A;
V38E/T39W/V41R/D60aP/Y60bD/L97bA/H99L/C122S;
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/I65T/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K;
V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V;
R35Q/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
R36S/V38E/Y40Q/V41R/L97bG/H99L/C122S/Y151P/R217E;
V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S;
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E;
H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E;

F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/
K187S/K223S/K224Y;
Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S;
F30H/R35H/V38D/V41R/K61E/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/R206H;
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K;
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
R35A/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
V38D/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217Q;
F30H/R35Q/H37W/V38D/V41R/D60aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/Y151L/M157K/R217D;
F30Y/R35F/R36H/H37G/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bS/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
T39Y/V41R/L97bG/H99Q/C122S;
F30Y/R35I/R36H/H37E/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bS/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K;
R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
Y40H/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/R217T;
R35W/H37D/V38D/T39Y/V41R/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
V38D/T39F/Y40L/V41R/T97aW/L97bA/H99Q/C122S;
V38D/T39Y/Y40L/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S;
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/M157K;
V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S;
V38D/T39Y/Y40L/V41R/T97aW/L97bA/H99Q/C122S;
F30Y/R36H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99L/C122S/F141L/M157K/T158A;
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aA/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/M157K;
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/M157K;
T39Y/V41R/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S;
F30H/R36H/V38D/V41R/T56A/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K;
F30Y/R35E/R36H/H37D/R37aN/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/
Y149R/M157K;
V38E/Y40Q/V41L/D60aP/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S/Y149W;
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K;
F30H/R35Q/H37W/V38D/V41R/D60aE/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/Y151L/M157K;

R35Q/H37G/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151P/M157K/Q192H;

F30Y/R35M/R36H/H37D/R37aD/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bT/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aV/L97bA/H99Q/C122S;

V38D/V41R/Y60bS/T97aI/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192F/R217E/K224R;

T39Y/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S;

R36H/V38D/Y40F/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151L/Q192E/R217D;

R35M/H37G/R37aD/V38E/T39W/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/Q192H;

F30H/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157F;

H37M/R37aD/V38E/T39A/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/Y151L/M157K;

T22I/F30Y/R35S/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/I138V/M157K;

R35L/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R35L/V38D/Y40H/V41R/N76S/L97bA/H99Q/C122S/M157K/K187E;

F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157S;

R35W/H37D/V38D/T39Y/V41R/Y60bH/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

F30Y/R36H/H37G/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bA/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149Q/M157K;

R35Q/H37G/R37aE/V38W/T39Y/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/
E175D/Q192T/R217E/K224R;

H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R;

V38D/T39Y/Y40M/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S;

R35Q/H37N/V38D/T39Y/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S;

F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K;

R35Q/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;

V38E/T39L/V41R/D60aN/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S;

F30Y/R36H/H37A/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;

F30Y/R35W/R36H/H37E/R37aP/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149Q/M157K;

H37T/R37aL/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192R;
H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R;
F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/Y40H/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K;
V38D/T39W/Y40L/V41R/T97aL/L97bA/H99Q/C122S;
H37G/R37aD/G37bD/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R;
T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S;
V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aW/L97bA/H99Q/C122S;
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/L150V/M157K;
R35S/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157Y;
R37aS/V38D/T39Y/Y40F/V41R/H99L/C122S/R217T;
Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;
Y40H/V41T/L97bG/H99Q/C122S/R217T; và

bất kỳ trong các polypeptit này trong đó C122S không được biến đổi và là C122C, bằng cách đánh số chymotrypsin.

17. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-16, bao gồm biến đổi axit amin:

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L; hoặc
R35Q/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc

R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aA/Y60bP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35L/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35M/H37G/R37aD/V38E/T39W/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37G/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35A/H37G/R37aE/V38E/T39F/V41R/D60aE/Y60bP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37S/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37T/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aE/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R;hoặc
R35Q/H37G/R37aE/V38E/T39H/V41R/D60aP/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35W/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aE/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37G/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/D97T/T97aE/L97bG/A98S/H99L/C122S; hoặc
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41K/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192A; hoặc
R35Y/H37V/R37aW/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T; hoặc
R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L; hoặc
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41K/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T;

hoặc mỗi trong số các biến đổi trên không có thay thế ở C122.

18. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-17, bao gồm biến đổi axit amin tương ứng với Y40Q/V41L/L97bA/C122S hoặc Y40Q/V41R/L97bA/C122S hoặc Y40Q/V41L/L97bA hoặc Y40Q/V41R/L97bA.

19. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-18, bao gồm biến đổi axit amin tương ứng với R37aS/V41R/L97bG/H99Q hoặc R37aS/V41R/L97bG/H99Q/C122S.

20. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-19, bao gồm biến đổi axit amin tương ứng với T39Y/V41L/L97bA/H99Q/C122S hoặc T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S hoặc T39Y/V41L/L97bA/H99Q hoặc T39Y/V41R/L97bA/H99Q.

21. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 18, còn bao gồm thay thế tương ứng với H99Q.

22. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-21, bao gồm thay thế axit amin
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R; hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R.

23. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-22, bao gồm thay thế axit amin
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R, hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R.

24. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-23 bao gồm biến đổi axit amin tương ứng với
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R, hoặc
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R,

trong đó polypeptit u-PA không được biến đổi chứa miền proteaza được nêu trong SEQ ID NO: 2 hoặc SEQ ID NO: 5.

25. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-24, trong đó polypeptit không được biến đổi gồm u-PA trưởng thành của SEQ ID NO: 3 hoặc SEQ ID NO: 6.

26. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-25, trong đó polypeptit u-PA biến đổi bao gồm trình tự của gốc axit amin được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO: 8-44, 171, 176, 183, 184, 198, 199, 208, 211, 216-219, 221-228, 230-233, 240, 242, 243, 249, 260-265, 267, 268, 270-273, 275-292, 299, 300, 307, 309, 311-315, 324-326, 329, 330, 335, 337-341, 346-351, 356-360, 363-365, 368-374, 376, 377, 381, 382, 387, 389, 390, 397, 398-404, 417, 436, 445-448, 466, 469, 475, 481, 484-487, 494-496, 498, 500, 503-511, 513-520, 523, 534, 535, 538, 540-547, 550-553, 555, 557, 561, 562, 564, 565, 568, 576, 584-587, 591, 592, 594, 595, 597, 598, 600, 601, 603-608, 611-625, 627-629, 633, 645, 647-651, 653, 655-658, 661, 663-722, 724-729, 731-754, 792-802, 807, 818, 820-824, 826, 827, 829-836, 839, 841, 842, 849, 850, 855, 868-879, 881-884, 886, 891, 893, 900-904, 921, 924-926, 932, 934-940, 942-944, 946-961, 963, 967, 972, 973, 975, và 977-987 hoặc mỗi trong số các trình tự nêu trên có thay thế C122S hoặc không thay thế ở gốc C122.

27. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-28, trong đó polypeptit u-PA biến đổi bao gồm trình tự của gốc axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 18 hoặc SEQ ID NO:987.

28. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 1 mà bao gồm hai chuỗi và được hoạt hóa, trong đó polypeptit u-PA biến đổi chứa gốc C122 mà tạo thành liên kết disulfua với xystein tự do khác trong polypeptit.

29. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-28 mà được tiếp hợp với gốc hoặc polyme khác trực tiếp hoặc qua trình tự liên kết.

30. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 29, trong đó gốc hoặc polyme tăng thời gian bán rã huyết thanh và/hoặc giảm tính sinh miễn dịch hoặc cả hai.

31. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 1 mà được PEGyl hóa.

32. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 29 mà là protein dung hợp.

33. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 29-32 mà được liên kết trực tiếp hoặc gián tiếp với albumin huyết thanh.

34. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 33, trong đó albumin huyết thanh là albumin huyết thanh của người (HSA) chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 991, hoặc có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% với SEQ ID NO:991.

35. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 29 mà được tiếp hợp với polyme là polypeptit, trong đó polypeptit là miền multime hóa.

36. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 35, trong đó miền multime hóa là miền Fc mà bao gồm trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 50 hoặc SEQ ID NO:992 hoặc dạng mà có độ tương đồng trình tự ít nhất 90% hoặc ít nhất 95% với nó.

37. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 29-36, trong đó gốc hoặc polyme được liên kết qua trình tự liên kết peptit với polypeptit u-PA biến đổi.

38. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 37, trong đó trình tự liên kết chứa Gly và/hoặc Ser.

39. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 29, trong đó:

polypeptit được tiếp hợp qua trình tự liên kết; và

trình tự liên kết bao gồm trình tự của gốc axit amin được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1001-1003, và 1024-1029, multime của chúng và trình tự có độ tương đồng trình tự ít nhất 99% với nó.

40. Protein dung hợp, bao gồm polypeptit u-PA biến đổi hoặc phần có hoạt tính xúc tác của polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-39 mà được dung hợp với polypeptit không phải proteaza hoặc một phần của nó, trong đó polypeptit không phải proteaza được chọn từ trong số một hoặc nhiều albumin huyết thanh, miền Fc từ globulin miễn dịch G, miền liên kết axit hyaluronic (HABD), polypeptit GST (glutathion S-transferaza), thẻ his, thẻ cải biến giống ubiquitin nhỏ (SUMO), polypeptit thẻ cúm hemagglutinin (HA), kháng thể với HA là 12CA, và trình tự tín hiệu dị hợp là trình tự tín hiệu thrombin hoặc trình tự tín hiệu vùng V-III chuỗi Ig kappa (IgGκ) của chuột, hoặc là trình tự tín hiệu Interleukin-2 của người (hIL2).

41. Protein dung hợp theo điểm 40 mà bao gồm trình tự hoạt hóa dị hợp hoặc trình tự hoạt hóa u-PA.

42. Protein dung hợp theo điểm 41, trong đó trình tự hoạt hóa bao gồm xystein, và polypeptit u-PA biến đổi chứa xystein tự do, nhờ đó, khi hoạt hóa, polypeptit hoạt hóa thu được chứa hai chuỗi.

43. Protein dung hợp theo điểm 41, trong đó trình tự hoạt hóa là trình tự hoạt hóa u-PA hoặc trình tự hoạt hóa furin.

44. Protein dung hợp theo điểm 43, trong đó trình tự hoạt hóa là trình tự hoạt hóa được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO:995-998, 1041, và 1044 hoặc trình tự có độ tương đồng trình tự ít nhất 95% với trình tự được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO:995-998, 1041, và 1044.

45. Protein dung hợp theo điểm 40 mà bao gồm trình tự tín hiệu, trong đó trình tự tín hiệu tác động tiết protein dung hợp và được loại bỏ khỏi protein dung hợp.

46. Protein dung hợp, bao gồm u-PA biến đổi, trong đó protein dung hợp chứa trình tự của axit amin được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO:1006-1018 hoặc trình tự có độ tương đồng trình tự ít nhất 95% với protein dung hợp mà chứa trình tự của axit amin được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO:1006-1018.

47. Protein dung hợp bao gồm polypeptit u-PA biến đổi hoặc phần có hoạt tính xúc tác của polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 1 mà được dung hợp với polypeptit không phải proteaza hoặc một phần của nó, trong đó:

polypeptit không phải proteaza là đối tác dung hợp; và

đối tác dung hợp là albumin chứa trình tự của axit amin được nêu trong SEQ ID NO:991, hoặc miền Fc chứa trình tự của axit amin được nêu trong SEQ ID NO:992, hoặc miền liên kết axit hyaluronic (HABD) chứa trình tự của axit amin được nêu trong SEQ ID NO:994, hoặc kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó mà là mảnh scFv của kháng thể kháng collagen týp II được nêu trong SEQ ID NO: 993, hoặc đối tác dung hợp có độ tương đồng trình tự ít nhất là 95% với bất kỳ trong số các polypeptit của SEQ ID NO: 991-994.

48. Protein dung hợp theo điểm 40, bao gồm trình tự hoạt hóa, polypeptit u-PA biến đổi, và HSA.

49. Protein dung hợp theo điểm 40, bao gồm trình tự của axit amin được nêu trong: a) bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1004-1019 và 1034-1040, hoặc b) trình tự có độ tương

đồng trình tự ít nhất là 95% với trình tự của axit amin của bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1004-1019 và 1034-1040, hoặc c) trình tự của axit amin của a) hoặc b) mà trình tự tín hiệu được loại bỏ khỏi đó khi biểu hiện hoặc không được bao gồm.

50. Protein dung hợp theo điểm 49, trong đó trình tự của axit amin ở a), b) và c) là trình tự được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID NO: 1006, 1007, 1009 và 1010.

51. Protein dung hợp theo điểm 49, trong đó trình tự của axit amin ở a), b) và c) là trình tự được nêu trong SEQ ID NO:1015 hoặc 1019.

52. Protein dung hợp theo điểm 49 mà là dạng hoạt hóa hai chuỗi chứa chuỗi A và chuỗi B.

53. Protein dung hợp theo điểm 52, trong đó chuỗi B bắt đầu ở gốc IIGG của polypeptit u-PA biến đổi, tương ứng với gốc 1-4 của SEQ ID NO:2 và kết thúc ở đầu tận C của protein dung hợp.

54. Protein dung hợp theo điểm 52, bao gồm trình tự của axit amin được nêu trong bất kỳ trong số SEQ ID No: 1005, 1011, 1014, 1015, 1016, 1019 và 1036, nhưng thiếu trình tự tín hiệu.

55. Protein dung hợp theo điểm 54, bao gồm chuỗi A của gốc 21-178 và chuỗi B của gốc 179 đến đầu tận C của protein với liên kết disulfua nằm trong khoảng các gốc 168-299.

56. Protein dung hợp theo điểm 54 mà là protein dung hợp hoạt hóa hai chuỗi, bao gồm chuỗi A và chuỗi B, trong đó chuỗi A gồm gốc 21-178 của SEQ ID No. 1015, và chuỗi B gồm gốc 179-1022; và chuỗi A và B được liên kết qua cầu nối disulfua giữa C168 và C299 của SEQ ID NO:1015.

57. Protein dung hợp theo điểm 40 mà bao gồm miền multime hóa, và là dime thông qua tương tác của miền multime hóa bổ thể.

58. Protein dung hợp theo điểm 57, trong đó miền multime hóa là miền Fc.

59. Protein dung hợp theo điểm 57, trong đó polypeptit u-PA biến đổi bao gồm thay thế C122S.

60. Dược phẩm, bao gồm polypeptit u-PA biến đổi theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-39 hoặc protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 40-59 ở vật truyền dược dụng.

61. Dược phẩm theo điểm 60, trong đó polypeptit u-PA biến đổi ở dạng hoạt hóa hai chuỗi.

62. Dược phẩm theo điểm 61, trong đó polypeptit u-PA biến đổi bao gồm miền proteaza có trình tự của axit amin được nêu trong SEQ ID NO:21 hoặc SEQ ID NO:987.

63. Dược phẩm theo điểm 60, trong đó polypeptit u-PA biến đổi có trình tự được nêu trong SEQ ID NO:1015 hoặc 1019.

64. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 4, trong đó:

polypeptit u-PA biến đổi có ED_{50} để phân cắt làm bất hoạt C3 nhỏ hơn 50 nM ở thử nghiệm *in vitro*.

65. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 4, trong đó:

polypeptit u-PA biến đổi có độ ổn định lớn hơn 80% sau khi ủ trong 7 ngày trong PBS.

66. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 4, trong đó:

polypeptit u-PA biến đổi có độ ổn định lớn hơn 80% sau khi ủ trong 7 ngày trong dịch lỏng cơ thể.

67. Polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 34, trong đó albumin huyết thanh là albumin huyết thanh của người (HSA) có độ tương đồng trình tự ít nhất 95% với trình tự của axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 991.

68. Protein dung hợp, bao gồm polypeptit u-PA biến đổi hoặc phần có hoạt tính xúc tác của polypeptit u-PA biến đổi theo điểm 1 mà được dung hợp với polypeptit không phải proteaza hoặc một phần của nó.

69. Protein dung hợp theo điểm 68, trong đó polypeptit không phải proteaza được chọn từ trong số một hoặc nhiều trong số kháng thể chuỗi đơn hoặc mảnh liên kết kháng nguyên khác của kháng thể.

70. Protein dung hợp theo điểm 69, trong đó polypeptit không phải proteaza là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó mà là mảnh scFv của kháng thể kháng collagen týp II.

71. Dược phẩm, bao gồm protein dung hợp theo điểm 40.

72. Phân tử axit nucleic, bao gồm trình tự của nucleotit mã hóa polypeptit u-PA biến đổi hoặc protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-71.

73. Vectơ, bao gồm phân tử axit nucleic theo điểm 72.

74. Tế bào được phân lập hoặc dịch cấy tế bào, bao gồm phân tử axit nucleic theo điểm 72, trong đó tế bào được phân lập không là hợp tử của người.

75. Phương pháp sản xuất polypeptit u-PA biến đổi hoặc protein dung hợp bao gồm polypeptit u-PA biến đổi, bao gồm nuôi cấy tế bào hoặc giống cấy tế bào theo điểm 74 trong điều kiện để biểu hiện polypeptit u-PA biến đổi hoặc protein dung hợp được mã hóa.

76. Dược phẩm, bao gồm phân tử axit nucleic theo điểm 72.

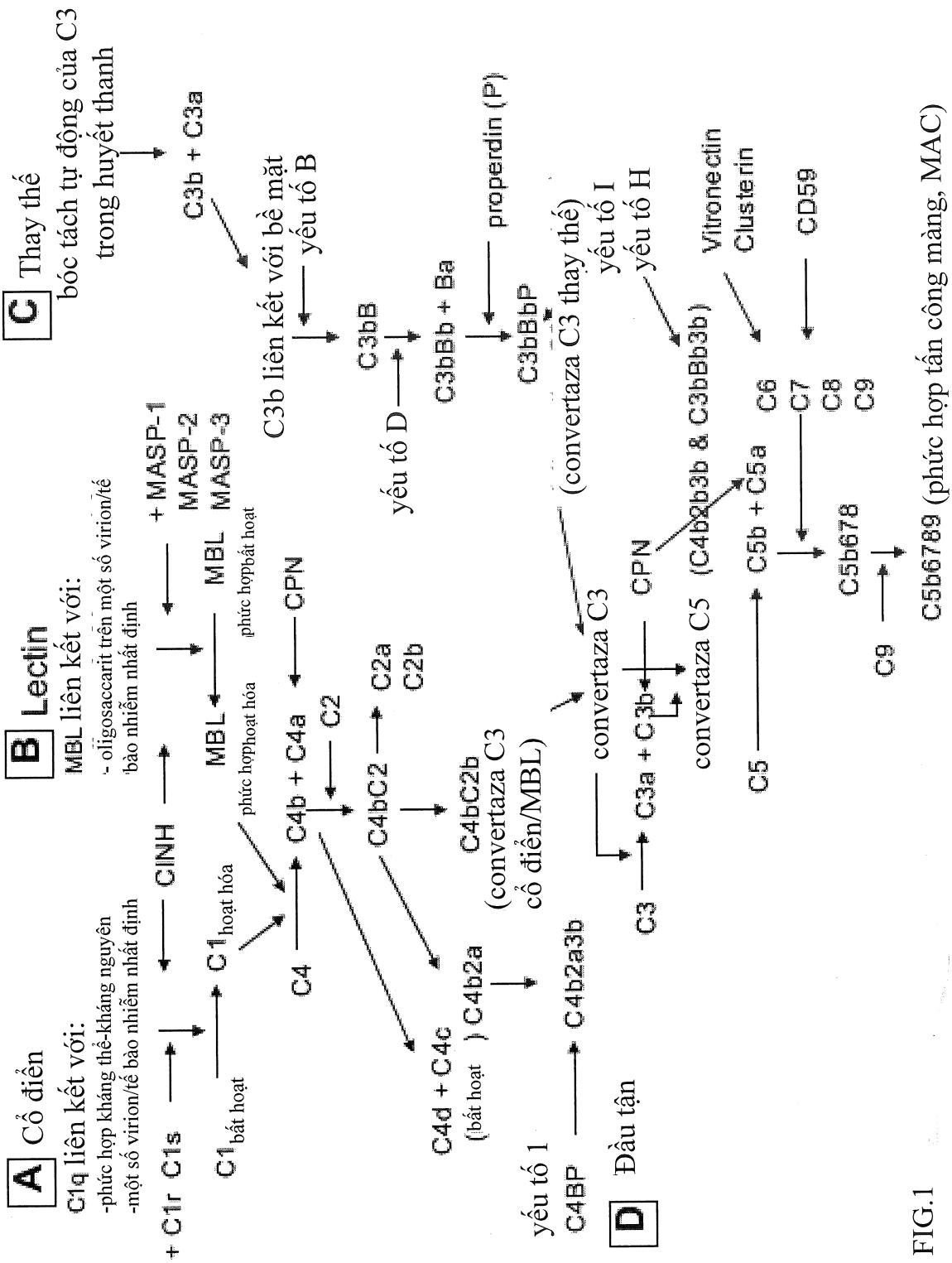

A Cổ điển
C1q liên kết với:
-phức hợp kháng thể-kháng nguyên
-một số virion/tế bào nhiễm nhất định
+ C1r C1s
C1 bất hoạt
CINH
C1 hoạt hóa
C4
C4b + C4a
C2
C4bC2
C2a
C2b
C4d + C4c
(bất hoạt) C4b2a
C4bC2b
(convertaza C3
cổ điển/MBL)
yếu tố 1
C4BP
C4b2a3b
B Lectin
MBL liên kết với:
- oligosaccarit trên một số virion/tế bào nhiễm nhất định
MBL
phức hợp
+ MASP-1
MASP-2
MASP-3
phức hợp hoạt hóa
bất hoạt
CPN
D Đầu tận
C3
C3a + C3b
convertaza C3
convertaza C5
C5
C5b + C5a
C6
C7
C8
C9
C5b678
C5b6789 (phức hợp tấn công màng, MAC)
C Thay thế
bóc tách tự động của C3
trong huyết thanh
C3b + C3a
C3b liên kết với bề mặt
yếu tố B
C3bB
yếu tố D
C3bBb + Ba
properdin (P)
C3bBbP
(convertaza C3 thay thế)
yếu tố I
yếu tố H
(C4b2b3b & C3bBb3b)
Vitronectin
Clusterin
CD59

FIG.1

FIG. 2

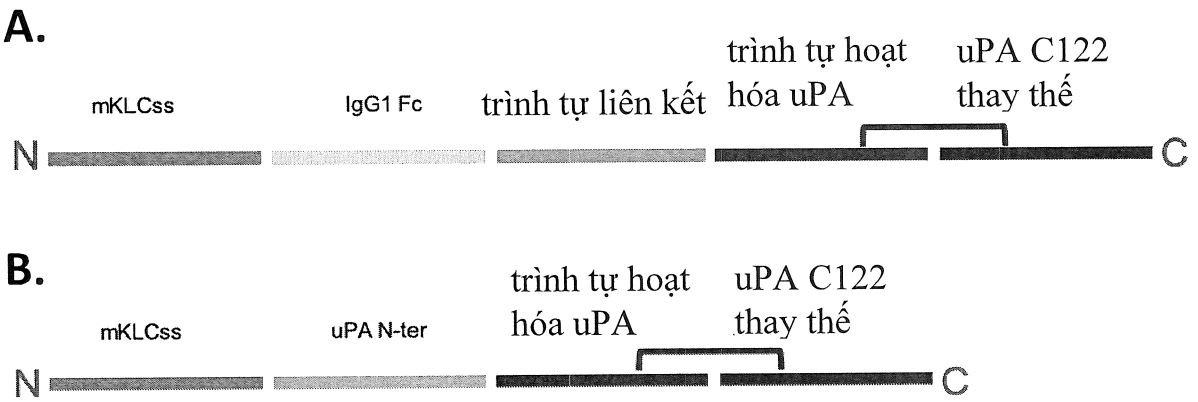
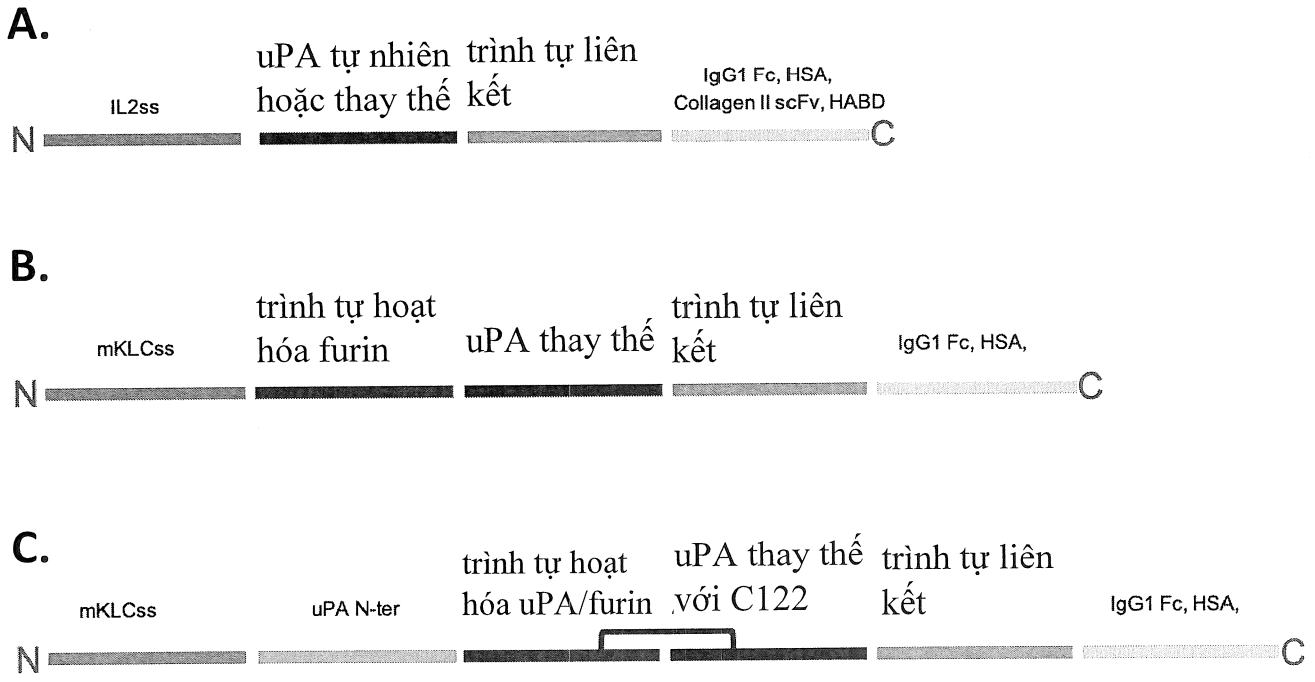
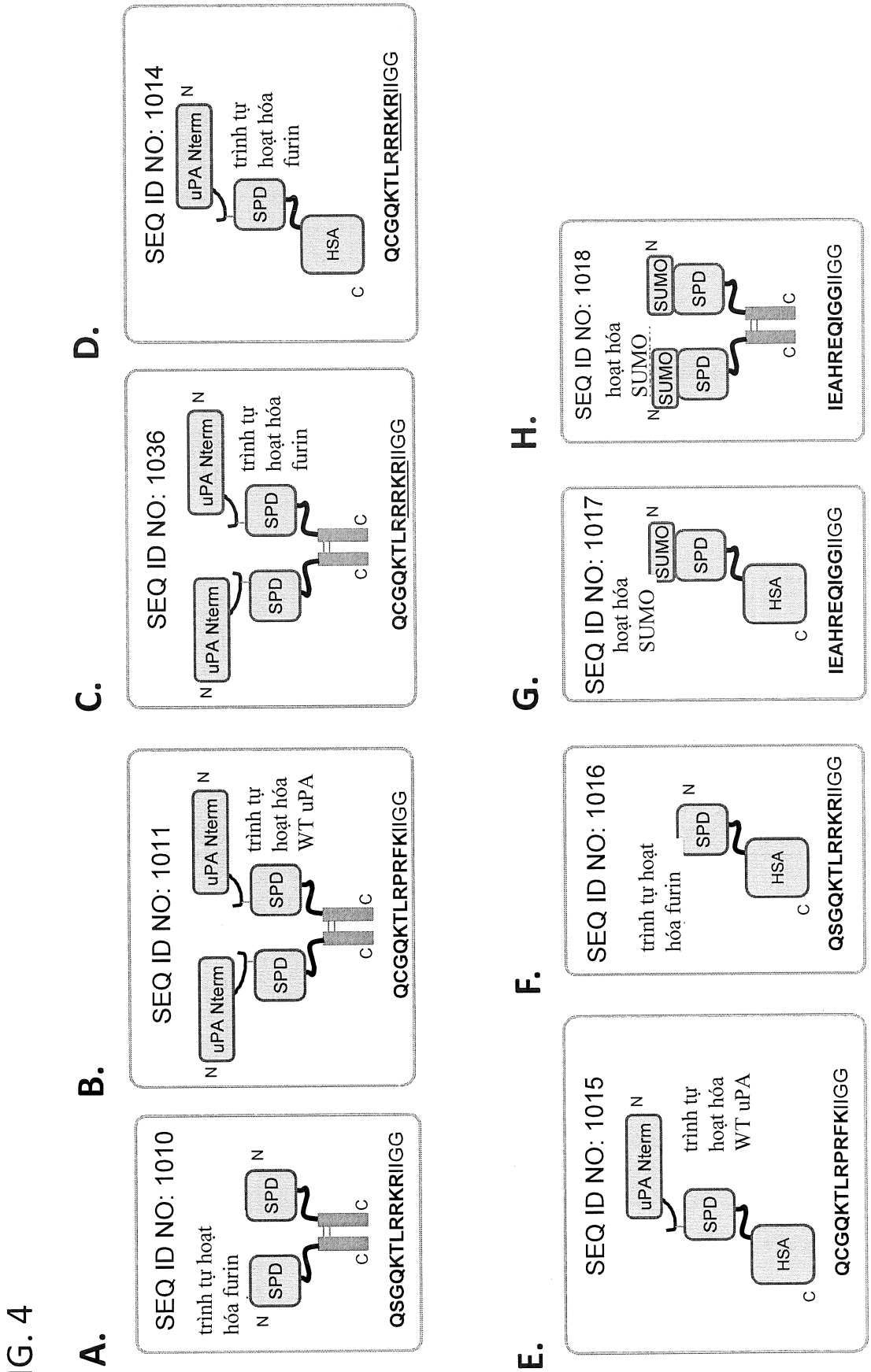


FIG. 3



47442
375/1154

FIG. 4


A.
SEQ ID NO: 1010
trình tự hoạt hóa furin
N
SPD
SPD
C
C
QSGQKTLRRKRIIGG
B.
SEQ ID NO: 1011
N
uPA Nterm
SPD
uPA Nterm
SPD
trình tự hoạt hóa WT uPA
C
C
QCGQKTLRPRFKIIGG
C.
SEQ ID NO: 1036
N
uPA Nterm
SPD
uPA Nterm
SPD
trình tự hoạt hóa furin
C
C
QCGQKTLRRRKRIIGG
D.
SEQ ID NO: 1014
uPA Nterm
N
SPD
trình tự hoạt hóa furin
HSA
C
QCGQKTLRRRKRIIGG
E.
SEQ ID NO: 1015
uPA Nterm
N
SPD
trình tự hoạt hóa WT uPA
HSA
C
QCGQKTLRPRFKIIGG
F.
SEQ ID NO: 1016
trình tự hoạt hóa furin
SPD
N
HSA
C
QSGQKTLRRKRIIGG
G.
SEQ ID NO: 1017
hoạt hóa SUMO
SUMO
N
SPD
HSA
C
IEAHREQIGGIIGG
H.
SEQ ID NO: 1018
hoạt hóa SUMO
N
SUMO
SPD
SUMO
N
SPD
C
C
IEAHREQIGGIIGG

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Madison, Edwin L.
Thanos, Christopher D.
Soros, Vanessa
Popkov, Mikhail
Tipton, Kimberly
Traylor, Matthew John
Furfine, Eric Steven
Way, Jeffrey Charles

<120> POLYPEPTIT HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA BIẾN ĐỔI VÀ PROTEIN DUNG HỢP BAO GỒM POLYPEPTIT NÀY

<130> 33328.04940.WO01/4940

<150> 62/786,302
<151> 2018-12-28

<160> 1044

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 431
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
pro-peptit

<400> 1
Met Arg Ala Leu Leu Ala Arg Leu Leu Leu Cys Val Leu Val Val Ser
1 5 10 15
Asp Ser Lys Gly Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp
20 25 30
Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile
35 40 45
His Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile
50 55 60
Asp Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly
65 70 75 80
Lys Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser
85 90 95
Ala Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu
100 105 110
Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg
115 120 125
Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln
130 135 140
Glu Cys Met Val His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro
145 150 155 160
Pro Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg
165 170 175
Phe Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp
180 185 190
Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val

```
        195                 200                 205
Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His
    210                 215                 220
Cys Phe Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly
225                 230                 235                 240
Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val
                245                 250                 255
Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His
            260                 265                 270
His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys
        275                 280                 285
Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr
    290                 295                 300
Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val
                325                 330                 335
Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly
            340                 345                 350
Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys
        355                 360                 365
Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu
    370                 375                 380
Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys
385                 390                 395                 400
Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu
                405                 410                 415
Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
            420                 425                 430
```

<210> 2
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

<400> 2

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
```

145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 3
<211> 411
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) trưởng thành

<400> 3
Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp Cys Leu Asn Gly
1 5 10 15
Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile His Trp Cys Asn
20 25 30
Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile Asp Lys Ser Lys
35 40 45
Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly Lys Ala Ser Thr
50 55 60
Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser Ala Thr Val Leu
65 70 75 80
Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln Leu Gly Leu
85 90 95
Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Arg Arg Pro Trp
100 105 110
Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln Glu Cys Met Val
115 120 125
His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro Glu Glu Leu
130 135 140
Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile Ile
145 150 155 160
Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile
165 170 175
Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly Gly Ser
180 185 190
Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Asp
195 200 205
Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Arg Leu
210 215 220
Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn Leu Ile
225 230 235 240
Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His Asn Asp Ile
245 250 255
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
260 265 270
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
275 280 285

```
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    290                 295                 300
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
305                 310                 315                 320
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                325                 330                 335
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            340                 345                 350
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        355                 360                 365
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    370                 375                 380
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
385                 390                 395                 400
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                405                 410
```

<210> 4
<211> 431
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> pro-peptit hoạt hóa plasminogen urokinaza (u-PA) C122S

<400> 4

```
Met Arg Ala Leu Leu Ala Arg Leu Leu Leu Cys Val Leu Val Val Ser
 1               5                  10                  15
Asp Ser Lys Gly Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp
            20                  25                  30
Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile
        35                  40                  45
His Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile
    50                  55                  60
Asp Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly
65                  70                  75                  80
Lys Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser
                85                  90                  95
Ala Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu
            100                 105                 110
Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Ser Arg Asn Pro Asp Asn Arg
        115                 120                 125
Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln
    130                 135                 140
Glu Cys Met Val His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro
145                 150                 155                 160
Pro Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg
                165                 170                 175
Phe Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp
            180                 185                 190
Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val
        195                 200                 205
Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His
    210                 215                 220
Cys Phe Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly
225                 230                 235                 240
Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val
                245                 250                 255
```

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

<210> 5
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza C122S

<400> 5

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

```
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 6
<211> 411
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) trưởng thành C122S

<400> 6

```
Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp Cys Leu Asn Gly
 1               5                  10                  15
Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile His Trp Cys Asn
            20                  25                  30
Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile Asp Lys Ser Lys
        35                  40                  45
Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly Lys Ala Ser Thr
    50                  55                  60
Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser Ala Thr Val Leu
65                  70                  75                  80
Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln Leu Gly Leu
                85                  90                  95
Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Arg Arg Pro Trp
            100                 105                 110
Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln Glu Cys Met Val
        115                 120                 125
His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro Glu Glu Leu
    130                 135                 140
Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile Ile
145                 150                 155                 160
Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile
                165                 170                 175
Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly Gly Ser
            180                 185                 190
Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Asp
        195                 200                 205
Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Arg Leu
    210                 215                 220
Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn Leu Ile
225                 230                 235                 240
Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His Asn Asp Ile
                245                 250                 255
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            260                 265                 270
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        275                 280                 285
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    290                 295                 300
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
305                 310                 315                 320
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                325                 330                 335
```

```
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            340                 345                 350
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        355                 360                 365
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    370                 375                 380
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
385                 390                 395                 400
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                405                 410
```

<210> 7
<211> 1296
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
pro-peptit

<400> 7
atgagagccc tgctggcgcg cctgcttctc tgcgtcctgg tcgtgagcga ctccaaaggc 60
agcaatgaac ttcatcaagt tccatcgaac tgtgactgtc taaatggagg aacatgtgtg 120
tccaacaagt acttctccaa cattcactgg tgcaactgcc caaagaaatt cggagggcag 180
cactgtgaaa tagataagtc aaaaacctgc tatgagggga atggtcactt ttaccgagga 240
aaggccagca ctgacaccat gggccggccc tgcctgccct ggaactctgc cactgtcctt 300
cagcaaacgt accatgccca cagatctgat gctcttcagc tgggcctggg gaaacataat 360
tactgcagga acccagacaa ccggaggcga ccctggtgct atgtgcaggt gggcctaaag 420
ccgcttgtcc aagagtgcat ggtgcatgac tgcgcagatg gaaaaaagcc ctcctctcct 480
ccagaagaat taaaatttca gtgtggccaa aagactctga ggccccgctt taagattatt 540
gggggagaat tcaccaccat cgagaaccag ccctggtttg cggccatcta caggaggcac 600
cgggggggct ctgtcaccta cgtgtgtgga ggcagcctca tcagcccttg ctgggtgatc 660
agcgccacac actgcttcat tgattaccca aagaaggagg actacatcgt ctacctgggt 720
cgctcaaggc ttaactccaa cacgcaaggg gagatgaagt ttgaggtgga aaacctcatc 780
ctacacaagg actacagcgc tgacacgctt gctcaccaca acgacattgc cttgctgaag 840
atccgttcca aggagggcag gtgtgcgcag ccatcccgga ctatacagac catctgcctg 900
ccctcgatgt ataacgatcc ccagtttggc acaagctgtg agatcactgg ctttggaaaa 960
gagaattcta ccgactatct ctatccggag cagctgaaaa tgactgttgt gaagctgatt 1020
tcccaccggg agtgtcagca gccccactac tacggctctg aagtcaccac caaaatgctg 1080
tgtgctgctg acccacagtg gaaaacagat tcctgccagg gagactcagg gggacccctc 1140
gtctgttccc tccaaggccg catgactttg actggaattg tgagctgggg ccgtggatgt 1200
gccctgaagg acaagccagg cgtctacacg agagtctcac acttcttacc ctggatccgc 1260
agtcacacca aggaagagaa tggcctggcc ctctga 1296

<210> 8
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 8
```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
```

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

<210> 9
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 9

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 10
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 10

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 11
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/R36H/H37N/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H

<400> 11
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Asn Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 12
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 12

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 13
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37N/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 13

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Asn Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
```

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

<210> 14
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37P/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 14

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Pro Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

```
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 15
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S

<400> 15

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 16
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60a

P/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 16
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Gly Glu Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 17
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37P/R37aQ/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60b
H/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 17
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Pro Gln Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp His Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn

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

<210> 18
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 18

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Thr Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
```

```
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 19
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 19

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp Arg Pro Asn Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 20
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/H37D/R37aP/V38E/T39W/V41R/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 20
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Asp Pro Gly Gly Ser Glu Trp Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 21
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 21
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 22
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/
H99Q/C122S/Y149R

<400> 22

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
```

```
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 23
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/
H99Q/C122S/Y149R

<400> 23

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 24

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H
99Q/C122S/Y149R

<400> 24
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 25
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/
H99Q/C122S/Y149R

<400> 25
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Val Tyr Tyr Arg Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 26
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/
H99Q/C122S/Y149R

<400> 26

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
```

```
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 27
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/
H99Q/C122S/Y149R

<400> 27

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
```

245 250

<210> 28
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 28
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 29
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 29
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 30
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H
99Q/C122S/Y149R

<400> 30
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln

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

<210> 31
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/H99Q/C122S/Y149R

<400> 31

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Leu Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
```

```
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 32
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/C122S/Y149R

<400> 32

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 33
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)

miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S

<400> 33
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 34
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S

<400> 34
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn

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

<210> 35
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38E/Y40Q/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S

<400> 35

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
```

```
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 36
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S

<400> 36

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 37
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/H99Q/C122S

<400> 37
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 38
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38E/Y40Q/V41L/Y60bL/L97bA/C122S

<400> 38
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp

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

<210> 39
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S

<400> 39

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
```

245 250

<210> 40
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40Q/V41L/L97bA/C122S

<400> 40
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 41
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza R37aS/V41R/L97bG/H99Q/C122S

<400> 41
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Val Thr Tyr Arg Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 42
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S

<400> 42

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
```

145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 43
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S

<400> 43
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 44

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza T39Y/V41R/D60aP/L97bA/H99Q/C122S

<400> 44
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 45
<211> 330
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIgG1 hằng định chuỗi nặng

<400> 45
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr 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 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225                 230                 235                 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325                 330
```

<210> 46
<211> 5132
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>

<400> 46

```
agataaaaag ccagctccag caggcgctgc tcactcctcc ccatcctctc cctctgtccc 60
tctgtccctc tgaccctgca ctgtcccagc accatgggac ccacctcagg tcccagcctg 120
ctgctcctgc tactaaccca cctccccctg gctctgggga gtcccatgta ctctatcatc 180
acccccaaca tcttgcggct ggagagcgag gagaccatgg tgctggaggc ccacgacgcg 240
caaggggatg ttccagtcac tgttactgtc cacgacttcc caggcaaaaa actagtgctg 300
tccagtgaga agactgtgct gacccctgcc accaaccaca tgggcaacgt caccttcacg 360
atcccagcca acagggagtt caagtcagaa aaggggcgca acaagttcgt gaccgtgcag 420
gccaccttcg ggacccaagt ggtggagaag gtggtgctgg tcagcctgca gagcgggtac 480
ctcttcatcc agacagacaa gaccatctac acccctggct ccacagttct ctatcggatc 540
ttcaccgtca accacaagct gctacccgtg ggccggacgg tcatggtcaa cattgagaac 600
ccggaaggca tcccggtcaa gcaggactcc ttgtcttctc agaaccagct tggcgtcttg 660
cccttgtctt gggacattcc ggaactcgtc aacatgggcc agtggaagat ccgagcctac 720
tatgaaaact caccacagca ggtcttctcc actgagtttg aggtgaagga gtacgtgctg 780
cccagtttcg aggtcatagt ggagcctaca gagaaattct actacatcta taacgagaag 840
ggcctggagg tcaccatcac cgccaggttc ctctacggga agaaagtgga gggaactgcc 900
tttgtcatct tcgggatcca ggatggcgaa cagaggattt ccctgcctga atcctcaag 960
```

cgcattccga ttgaggatgg ctcgggggag gttgtgctga gccggaaggt actgctggac 1020
ggggtgcaga acccccgagc agaagacctg gtggggaagt ctttgtacgt gtctgccacc 1080
gtcatcttgc actcaggcag tgacatggtg caggcagagc gcagcgggat ccccatcgtg 1140
acctctccct accagatcca cttcaccaag acacccaagt acttcaaacc aggaatgccc 1200
tttgacctca tggtgttcgt gacgaaccct gatggctctc cagcctaccg agtccccgtg 1260
gcagtccagg gcgaggacac tgtgcagtct ctaacccagg gagatggcgt ggccaaactc 1320
agcatcaaca cacaccccag ccagaagccc ttgagcatca cggtgcgcac gaagaagcag 1380
gagctctcgg aggcagagca ggctaccagg accatgcagg ctctgcccta cagcaccgtg 1440
ggcaactcca acaattacct gcatctctca gtgctacgta cagagctcag acccggggag 1500
accctcaacg tcaacttcct cctgcgaatg gaccgcgccc acgaggccaa gatccgctac 1560
tacacctacc tgatcatgaa caagggcagg ctgttgaagg cgggacgcca ggtgcgagag 1620
cccggccagg acctggtggt gctgcccctg tccatcacca ccgacttcat cccttccttc 1680
cgcctggtgg cgtactacac gctgatcggt gccagcggcc agagggaggt ggtggccgac 1740
tccgtgtggg tggacgtcaa ggactcctgc gtgggctcgc tggtggtaaa aagcggccag 1800
tcagaagacc ggcagcctgt acctgggcag cagatgaccc tgaagataga gggtgaccac 1860
ggggcccggg tggtactggt ggccgtggac aagggcgtgt tcgtgctgaa taagaagaac 1920
aaactgacgc agagtaagat ctgggacgtg gtggagaagg cagacatcgg ctgcaccccg 1980
ggcagtggga aggattacgc cggtgtcttc tccgacgcag ggctgacctt cacgagcagc 2040
agtggccagc agaccgccca gagggcagaa cttcagtgcc cgcagccagc cgcccgccga 2100
cgccgttccg tgcagctcac ggagaagcga atggacaaag tcggcaagta ccccaaggag 2160
ctgcgcaagt gctgcgagga cggcatgcgg gagaacccca tgaggttctc gtgccagcgc 2220
cggacccgtt tcatctccct gggcgaggcg tgcaagaagg tcttcctgga ctgctgcaac 2280
tacatcacag agctgcggcg gcagcacgcg cgggccagcc acctgggcct ggccaggagt 2340
aacctggatg aggacatcat tgcagaagag aacatcgttt cccgaagtga gttcccagag 2400
agctggctgt ggaacgttga ggacttgaaa gagccaccga aaaatggaat ctctacgaag 2460
ctcatgaata tatttttgaa agactccatc accacgtggg agattctggc tgtgagcatg 2520
tcggacaaga aagggatctg tgtggcagac cccttcgagg tcacagtaat gcaggacttc 2580
ttcatcgacc tgcggctacc ctactctgtt gttcgaaacg agcaggtgga aatccgagcc 2640
gttctctaca attaccggca gaaccaagag ctcaaggtga gggtggaact actccacaat 2700
ccagccttct gcagcctggc caccaccaag aggcgtcacc agcagaccgt aaccatcccc 2760
cccaagtcct cgttgtccgt tccatatgtc atcgtgccgc taaagaccgg cctgcaggaa 2820
gtggaagtca aggctgctgt ctaccatcat ttcatcagtg acggtgtcag gaagtccctg 2880
aaggtcgtgc cggaaggaat cagaatgaac aaaactgtgg ctgttcgcac cctggatcca 2940
gaacgcctgg gccgtgaagg agtgcagaaa gaggacatcc cacctgcaga cctcagtgac 3000
caagtcccgg acaccgagtc tgagaccaga attctcctgc aagggacccc agtggcccag 3060
atgacagagg atgccgtcga cgcggaacgg ctgaagcacc tcattgtgac cccctcgggc 3120
tgcggggaac agaacatgat cggcatgacg cccacggtca tcgctgtgca ttacctggat 3180
gaaacggagc agtgggagaa gttcggccta gagaagcggc agggggcctt ggagctcatc 3240
aagaaggggt acacccagca gctggccttc agacaaccca gctctgcctt tgcggccttc 3300
gtgaaacggg cacccagcac ctggctgacc gcctacgtgg tcaaggtctt ctctctggct 3360
gtcaacctca tcgccatcga ctcccaagtc ctctgcgggg ctgttaaatg gctgatcctg 3420
gagaagcaga agcccgacgg ggtcttccag gaggatgcgc ccgtgataca ccaagaaatg 3480
attggtggat tacggaacaa caacgagaaa gacatggccc tcacggcctt tgttctcatc 3540
tcgctgcagg aggctaaaga tatttgcgag gagcaggtca acagcctgcc aggcagcatc 3600
actaaagcag gagacttcct tgaagccaac tacatgaacc tacagagatc ctacactgtg 3660
gccattgctg gctatgctct ggcccagatg ggcaggctga aggggcctct tcttaacaaa 3720
tttctgacca cagccaaaga taagaaccgc tgggaggacc ctggtaagca gctctacaac 3780
gtggaggcca catcctatgc cctcttggcc ctactgcagc taaaagactt tgactttgtg 3840
cctcccgtcg tgcgttggct caatgaacag agatactacg gtggtggcta tggctctacc 3900
caggccacct tcatggtgtt ccaagccttg gctcaatacc aaaaggacgc ccctgaccac 3960
caggaactga accttgatgt gtccctccaa ctgcccagcc gcagctccaa gatcacccac 4020
cgtatccact gggaatctgc cagcctcctg cgatcagaag agaccaagga aaatgagggt 4080
ttcacagtca cagctgaagg aaaaggccaa ggcaccttgt cggtggtgac aatgtaccat 4140
gctaaggcca aagatcaact cacctgtaat aaattcgacc tcaaggtcac cataaaacca 4200
gcaccggaaa cagaaaagag gcctcaggat gccaagaaca ctatgatcct tgagatctgt 4260
accaggtacc ggggagacca ggatgccact atgtctatat tggacatatc catgatgact 4320
ggctttgctc cagacacaga tgacctgaag cagctggcca atggtgttga cagatacatc 4380
tccaagtatg agctggacaa agccttctcc gataggaaca ccctcatcat ctacctggac 4440
aaggtctcac actctgagga tgactgtcta gctttcaaag ttcaccaata ctttaatgta 4500
gagcttatcc agcctggagc agtcaaggtc tacgcctatt acaacctgga ggaaagctgt 4560

acccggttct accatccgga aaaggaggat ggaaagctga acaagctctg ccgtgatgaa 4620
ctgtgccgct gtgctgagga gaattgcttc atacaaaagt cggatgacaa ggtcaccctg 4680
gaagaacggc tggacaaggc ctgtgagcca ggagtggact atgtgtacaa gacccgactg 4740
gtcaaggttc agctgtccaa tgactttgac gagtacatca tggccattga gcagaccatc 4800
aagtcaggct cggatgaggt gcaggttgga cagcagcgca cgttcatcag ccccatcaag 4860
tgcagagaag ccctgaagct ggaggagaag aaacactacc tcatgtgggg tctctcctcc 4920
gatttctggg gagagaagcc caacctcagc tacatcatcg ggaaggacac ttgggtggag 4980
cactggcccg aggaggacga atgccaagac gaagagaacc agaaacaatg ccaggacctc 5040
ggcgccttca ccgagagcat ggttgtcttt gggtgcccca actgaccaca cccccattcc 5100
cccactccag ataaagcttc agttatatct ca 5132

<210> 47
<211> 1663
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Protein bổ thể C3

<400> 47
Met Gly Pro Thr Ser Gly Pro Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Thr His
 1   5   10   15
Leu Pro Leu Ala Leu Gly Ser Pro Met Tyr Ser Ile Ile Thr Pro Asn
            20   25   30
Ile Leu Arg Leu Glu Ser Glu Glu Thr Met Val Leu Glu Ala His Asp
        35   40   45
Ala Gln Gly Asp Val Pro Val Thr Val Thr Val His Asp Phe Pro Gly
    50   55   60
Lys Lys Leu Val Leu Ser Ser Glu Lys Thr Val Leu Thr Pro Ala Thr
65   70   75   80
Asn His Met Gly Asn Val Thr Phe Thr Ile Pro Ala Asn Arg Glu Phe
                85   90   95
Lys Ser Glu Lys Gly Arg Asn Lys Phe Val Thr Val Gln Ala Thr Phe
            100   105   110
Gly Thr Gln Val Val Glu Lys Val Val Leu Val Ser Leu Gln Ser Gly
        115   120   125
Tyr Leu Phe Ile Gln Thr Asp Lys Thr Ile Tyr Thr Pro Gly Ser Thr
    130   135   140
Val Leu Tyr Arg Ile Phe Thr Val Asn His Lys Leu Leu Pro Val Gly
145   150   155   160
Arg Thr Val Met Val Asn Ile Glu Asn Pro Glu Gly Ile Pro Val Lys
                165   170   175
Gln Asp Ser Leu Ser Ser Gln Asn Gln Leu Gly Val Leu Pro Leu Ser
            180   185   190
Trp Asp Ile Pro Glu Leu Val Asn Met Gly Gln Trp Lys Ile Arg Ala
        195   200   205
Tyr Tyr Glu Asn Ser Pro Gln Gln Val Phe Ser Thr Glu Phe Glu Val
    210   215   220
Lys Glu Tyr Val Leu Pro Ser Phe Glu Val Ile Val Glu Pro Thr Glu
225   230   235   240
Lys Phe Tyr Tyr Ile Tyr Asn Glu Lys Gly Leu Glu Val Thr Ile Thr
                245   250   255
Ala Arg Phe Leu Tyr Gly Lys Lys Val Glu Gly Thr Ala Phe Val Ile
            260   265   270
Phe Gly Ile Gln Asp Gly Glu Gln Arg Ile Ser Leu Pro Glu Ser Leu
        275   280   285
Lys Arg Ile Pro Ile Glu Asp Gly Ser Gly Glu Val Val Leu Ser Arg
    290   295   300

Lys Val Leu Leu Asp Gly Val Gln Asn Pro Arg Ala Glu Asp Leu Val
305 310 315 320
Gly Lys Ser Leu Tyr Val Ser Ala Thr Val Ile Leu His Ser Gly Ser
325 330 335
Asp Met Val Gln Ala Glu Arg Ser Gly Ile Pro Ile Val Thr Ser Pro
340 345 350
Tyr Gln Ile His Phe Thr Lys Thr Pro Lys Tyr Phe Lys Pro Gly Met
355 360 365
Pro Phe Asp Leu Met Val Phe Val Thr Asn Pro Asp Gly Ser Pro Ala
370 375 380
Tyr Arg Val Pro Val Ala Val Gln Gly Glu Asp Thr Val Gln Ser Leu
385 390 395 400
Thr Gln Gly Asp Gly Val Ala Lys Leu Ser Ile Asn Thr His Pro Ser
405 410 415
Gln Lys Pro Leu Ser Ile Thr Val Arg Thr Lys Lys Gln Glu Leu Ser
420 425 430
Glu Ala Glu Gln Ala Thr Arg Thr Met Gln Ala Leu Pro Tyr Ser Thr
435 440 445
Val Gly Asn Ser Asn Asn Tyr Leu His Leu Ser Val Leu Arg Thr Glu
450 455 460
Leu Arg Pro Gly Glu Thr Leu Asn Val Asn Phe Leu Leu Arg Met Asp
465 470 475 480
Arg Ala His Glu Ala Lys Ile Arg Tyr Tyr Thr Tyr Leu Ile Met Asn
485 490 495
Lys Gly Arg Leu Leu Lys Ala Gly Arg Gln Val Arg Glu Pro Gly Gln
500 505 510
Asp Leu Val Val Leu Pro Leu Ser Ile Thr Thr Asp Phe Ile Pro Ser
515 520 525
Phe Arg Leu Val Ala Tyr Tyr Thr Leu Ile Gly Ala Ser Gly Gln Arg
530 535 540
Glu Val Val Ala Asp Ser Val Trp Val Asp Val Lys Asp Ser Cys Val
545 550 555 560
Gly Ser Leu Val Val Lys Ser Gly Gln Ser Glu Asp Arg Gln Pro Val
565 570 575
Pro Gly Gln Gln Met Thr Leu Lys Ile Glu Gly Asp His Gly Ala Arg
580 585 590
Val Val Leu Val Ala Val Asp Lys Gly Val Phe Val Leu Asn Lys Lys
595 600 605
Asn Lys Leu Thr Gln Ser Lys Ile Trp Asp Val Val Glu Lys Ala Asp
610 615 620
Ile Gly Cys Thr Pro Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Ala Gly Val Phe Ser
625 630 635 640
Asp Ala Gly Leu Thr Phe Thr Ser Ser Ser Gly Gln Gln Thr Ala Gln
645 650 655
Arg Ala Glu Leu Gln Cys Pro Gln Pro Ala Ala Arg Arg Arg Arg Ser
660 665 670
Val Gln Leu Thr Glu Lys Arg Met Asp Lys Val Gly Lys Tyr Pro Lys
675 680 685
Glu Leu Arg Lys Cys Cys Glu Asp Gly Met Arg Glu Asn Pro Met Arg
690 695 700
Phe Ser Cys Gln Arg Arg Thr Arg Phe Ile Ser Leu Gly Glu Ala Cys
705 710 715 720
Lys Lys Val Phe Leu Asp Cys Cys Asn Tyr Ile Thr Glu Leu Arg Arg
725 730 735
Gln His Ala Arg Ala Ser His Leu Gly Leu Ala Arg Ser Asn Leu Asp
740 745 750
Glu Asp Ile Ile Ala Glu Glu Asn Ile Val Ser Arg Ser Glu Phe Pro
755 760 765
Glu Ser Trp Leu Trp Asn Val Glu Asp Leu Lys Glu Pro Pro Lys Asn
770 775 780

Gly Ile Ser Thr Lys Leu Met Asn Ile Phe Leu Lys Asp Ser Ile Thr
785 790 795 800
Thr Trp Glu Ile Leu Ala Val Ser Met Ser Asp Lys Lys Gly Ile Cys
805 810 815
Val Ala Asp Pro Phe Glu Val Thr Val Met Gln Asp Phe Phe Ile Asp
820 825 830
Leu Arg Leu Pro Tyr Ser Val Val Arg Asn Glu Gln Val Glu Ile Arg
835 840 845
Ala Val Leu Tyr Asn Tyr Arg Gln Asn Gln Glu Leu Lys Val Arg Val
850 855 860
Glu Leu Leu His Asn Pro Ala Phe Cys Ser Leu Ala Thr Thr Lys Arg
865 870 875 880
Arg His Gln Gln Thr Val Thr Ile Pro Pro Lys Ser Ser Leu Ser Val
885 890 895
Pro Tyr Val Ile Val Pro Leu Lys Thr Gly Leu Gln Glu Val Glu Val
900 905 910
Lys Ala Ala Val Tyr His His Phe Ile Ser Asp Gly Val Arg Lys Ser
915 920 925
Leu Lys Val Val Pro Glu Gly Ile Arg Met Asn Lys Thr Val Ala Val
930 935 940
Arg Thr Leu Asp Pro Glu Arg Leu Gly Arg Glu Gly Val Gln Lys Glu
945 950 955 960
Asp Ile Pro Pro Ala Asp Leu Ser Asp Gln Val Pro Asp Thr Glu Ser
965 970 975
Glu Thr Arg Ile Leu Leu Gln Gly Thr Pro Val Ala Gln Met Thr Glu
980 985 990
Asp Ala Val Asp Ala Glu Arg Leu Lys His Leu Ile Val Thr Pro Ser
995 1000 1005
Gly Cys Gly Glu Gln Asn Met Ile Gly Met Thr Pro Thr Val Ile Ala
1010 1015 1020
Val His Tyr Leu Asp Glu Thr Glu Gln Trp Glu Lys Phe Gly Leu Glu
1025 1030 1035 1040
Lys Arg Gln Gly Ala Leu Glu Leu Ile Lys Lys Gly Tyr Thr Gln Gln
1045 1050 1055
Leu Ala Phe Arg Gln Pro Ser Ser Ala Phe Ala Ala Phe Val Lys Arg
1060 1065 1070
Ala Pro Ser Thr Trp Leu Thr Ala Tyr Val Val Lys Val Phe Ser Leu
1075 1080 1085
Ala Val Asn Leu Ile Ala Ile Asp Ser Gln Val Leu Cys Gly Ala Val
1090 1095 1100
Lys Trp Leu Ile Leu Glu Lys Gln Lys Pro Asp Gly Val Phe Gln Glu
1105 1110 1115 1120
Asp Ala Pro Val Ile His Gln Glu Met Ile Gly Gly Leu Arg Asn Asn
1125 1130 1135
Asn Glu Lys Asp Met Ala Leu Thr Ala Phe Val Leu Ile Ser Leu Gln
1140 1145 1150
Glu Ala Lys Asp Ile Cys Glu Glu Gln Val Asn Ser Leu Pro Gly Ser
1155 1160 1165
Ile Thr Lys Ala Gly Asp Phe Leu Glu Ala Asn Tyr Met Asn Leu Gln
1170 1175 1180
Arg Ser Tyr Thr Val Ala Ile Ala Gly Tyr Ala Leu Ala Gln Met Gly
1185 1190 1195 1200
Arg Leu Lys Gly Pro Leu Leu Asn Lys Phe Leu Thr Thr Ala Lys Asp
1205 1210 1215
Lys Asn Arg Trp Glu Asp Pro Gly Lys Gln Leu Tyr Asn Val Glu Ala
1220 1225 1230
Thr Ser Tyr Ala Leu Leu Ala Leu Leu Gln Leu Lys Asp Phe Asp Phe
1235 1240 1245
Val Pro Pro Val Val Arg Trp Leu Asn Glu Gln Arg Tyr Tyr Gly Gly
1250 1255 1260

Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Ala Thr Phe Met Val Phe Gln Ala Leu Ala
1265 1270 1275 1280
Gln Tyr Gln Lys Asp Ala Pro Asp His Gln Glu Leu Asn Leu Asp Val
1285 1290 1295
Ser Leu Gln Leu Pro Ser Arg Ser Ser Lys Ile Thr His Arg Ile His
1300 1305 1310
Trp Glu Ser Ala Ser Leu Leu Arg Ser Glu Glu Thr Lys Glu Asn Glu
1315 1320 1325
Gly Phe Thr Val Thr Ala Glu Gly Lys Gly Gln Gly Thr Leu Ser Val
1330 1335 1340
Val Thr Met Tyr His Ala Lys Ala Lys Asp Gln Leu Thr Cys Asn Lys
1345 1350 1355 1360
Phe Asp Leu Lys Val Thr Ile Lys Pro Ala Pro Glu Thr Glu Lys Arg
1365 1370 1375
Pro Gln Asp Ala Lys Asn Thr Met Ile Leu Glu Ile Cys Thr Arg Tyr
1380 1385 1390
Arg Gly Asp Gln Asp Ala Thr Met Ser Ile Leu Asp Ile Ser Met Met
1395 1400 1405
Thr Gly Phe Ala Pro Asp Thr Asp Asp Leu Lys Gln Leu Ala Asn Gly
1410 1415 1420
Val Asp Arg Tyr Ile Ser Lys Tyr Glu Leu Asp Lys Ala Phe Ser Asp
1425 1430 1435 1440
Arg Asn Thr Leu Ile Ile Tyr Leu Asp Lys Val Ser His Ser Glu Asp
1445 1450 1455
Asp Cys Leu Ala Phe Lys Val His Gln Tyr Phe Asn Val Glu Leu Ile
1460 1465 1470
Gln Pro Gly Ala Val Lys Val Tyr Ala Tyr Tyr Asn Leu Glu Glu Ser
1475 1480 1485
Cys Thr Arg Phe Tyr His Pro Glu Lys Glu Asp Gly Lys Leu Asn Lys
1490 1495 1500
Leu Cys Arg Asp Glu Leu Cys Arg Cys Ala Glu Glu Asn Cys Phe Ile
1505 1510 1515 1520
Gln Lys Ser Asp Asp Lys Val Thr Leu Glu Glu Arg Leu Asp Lys Ala
1525 1530 1535
Cys Glu Pro Gly Val Asp Tyr Val Tyr Lys Thr Arg Leu Val Lys Val
1540 1545 1550
Gln Leu Ser Asn Asp Phe Asp Glu Tyr Ile Met Ala Ile Glu Gln Thr
1555 1560 1565
Ile Lys Ser Gly Ser Asp Glu Val Gln Val Gly Gln Gln Arg Thr Phe
1570 1575 1580
Ile Ser Pro Ile Lys Cys Arg Glu Ala Leu Lys Leu Glu Glu Lys Lys
1585 1590 1595 1600
His Tyr Leu Met Trp Gly Leu Ser Ser Asp Phe Trp Gly Glu Lys Pro
1605 1610 1615
Asn Leu Ser Tyr Ile Ile Gly Lys Asp Thr Trp Val Glu His Trp Pro
1620 1625 1630
Glu Glu Asp Glu Cys Gln Asp Glu Glu Asn Gln Lys Gln Cys Gln Asp
1635 1640 1645
Leu Gly Ala Phe Thr Glu Ser Met Val Val Phe Gly Cys Pro Asn
1650 1655 1660

<210> 48
<211> 157
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> uPA chuỗi dài

<400> 48
Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp Cys Leu Asn Gly
1 5 10 15
Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile His Trp Cys Asn
20 25 30
Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile Asp Lys Ser Lys
35 40 45
Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly Lys Ala Ser Thr
50 55 60
Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser Ala Thr Val Leu
65 70 75 80
Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln Leu Gly Leu
85 90 95
Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Arg Arg Pro Trp
100 105 110
Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln Glu Cys Met Val
115 120 125
His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro Glu Glu Leu
130 135 140
Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg Phe
145 150 155

<210> 49
<211> 22
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> uPA chuỗi ngắn

<400> 49
Lys Pro Ser Ser Pro Pro Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys
1 5 10 15
Thr Leu Arg Pro Arg Phe
20

<210> 50
<211> 231
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIgG1 Fc

<400> 50
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
1 5 10 15
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
20 25 30
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
35 40 45
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
50 55 60
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
65 70 75 80
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
85 90 95
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

```
            100                 105                 110
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
        115                 120                 125
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
    130                 135                 140
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
145                 150                 155                 160
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
                165                 170                 175
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
            180                 185                 190
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
        195                 200                 205
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
    210                 215                 220
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225                 230
```

<210> 51
<211> 414
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> u-PA đồng dạng 2

<400> 51

```
Met Val Phe His Leu Arg Thr Arg Tyr Glu Gln Ala Asn Cys Asp Cys
 1               5                  10                  15
Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile His
            20                  25                  30
Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile Asp
        35                  40                  45
Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly Lys
    50                  55                  60
Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser Ala
65                  70                  75                  80
Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln
                85                  90                  95
Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Arg
            100                 105                 110
Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln Glu
        115                 120                 125
Cys Met Val His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro
    130                 135                 140
Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg Phe
145                 150                 155                 160
Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe
                165                 170                 175
Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys
            180                 185                 190
Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys
        195                 200                 205
Phe Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg
    210                 215                 220
Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu
225                 230                 235                 240
Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His
                245                 250                 255
```

```
Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala
            260                 265                 270
Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr Asn
        275                 280                 285
Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu
    290                 295                 300
Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val
305                 310                 315                 320
Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser
                325                 330                 335
Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr
            340                 345                 350
Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln
        355                 360                 365
Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala
    370                 375                 380
Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro
385                 390                 395                 400
Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                405                 410
```

<210> 52
<211> 433
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> u-PA tiền chất

<400> 52

```
Met Lys Val Trp Leu Ala Ser Leu Phe Leu Cys Ala Leu Val Val Lys
 1               5                  10                  15
Asn Ser Glu Gly Gly Ser Val Leu Gly Ala Pro Asp Glu Ser Asn Cys
            20                  25                  30
Gly Cys Gln Asn Gly Gly Val Cys Val Ser Tyr Lys Tyr Phe Ser Arg
        35                  40                  45
Ile Arg Arg Cys Ser Cys Pro Arg Lys Phe Gln Gly Glu His Cys Glu
    50                  55                  60
Ile Asp Ala Ser Lys Thr Cys Tyr His Gly Asn Gly Asp Ser Tyr Arg
65                  70                  75                  80
Gly Lys Ala Asn Thr Asp Thr Lys Gly Arg Pro Cys Leu Ala Trp Asn
                85                  90                  95
Ala Pro Ala Val Leu Gln Lys Pro Tyr Asn Ala His Arg Pro Asp Ala
            100                 105                 110
Ile Ser Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn
        115                 120                 125
Gln Lys Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Ile Gly Leu Arg Gln Phe Val
    130                 135                 140
Gln Glu Cys Met Val His Asp Cys Ser Leu Ser Lys Lys Pro Ser Ser
145                 150                 155                 160
Ser Val Asp Gln Gln Gly Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg Pro
                165                 170                 175
Arg Phe Lys Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Glu Val Glu Asn Gln Pro
            180                 185                 190
Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Gln Lys Asn Lys Gly Gly Ser Pro Pro Ser
        195                 200                 205
Phe Lys Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ala Ser Ala
    210                 215                 220
Ala His Cys Phe Ile Gln Leu Pro Lys Lys Glu Asn Tyr Val Val Tyr
```

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

<210> 53
<211> 432
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<220>
<223> u-PA tiền chất

<400> 53
Met Arg Val Trp Leu Ala Ser Leu Phe Leu Cys Ala Leu Val Ala Asn
1 5 10 15
Ser Glu Gly Gly Ser Glu Leu Glu Ala Ser Asp Glu Ser Asn Cys Gly
20 25 30
Cys Gln Asn Gly Gly Val Cys Val Ser Tyr Lys Tyr Phe Ser Ser Ile
35 40 45
Arg Arg Cys Ser Cys Pro Lys Lys Phe Lys Gly Glu His Cys Glu Ile
50 55 60
Asp Thr Ser Lys Thr Cys Tyr His Gly Asn Gly Gln Ser Tyr Arg Gly
65 70 75 80
Lys Ala Asn Thr Asp Thr Lys Gly Arg Pro Cys Leu Ala Trp Asn Ser
85 90 95
Pro Ala Val Leu Gln Gln Thr Tyr Asn Ala His Arg Ser Asp Ala Leu
100 105 110
Ser Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Gln
115 120 125
Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Ile Gly Leu Lys Gln Phe Val Gln
130 135 140
Glu Cys Met Val Gln Asp Cys Ser Leu Ser Lys Lys Pro Ser Ser Thr
145 150 155 160
Val Asp Gln Gln Gly Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg Pro Arg
165 170 175

```
Phe Lys Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Val Val Glu Asn Gln Pro Trp
            180                 185                 190
Phe Ala Ala Ile Tyr Leu Lys Asn Lys Gly Gly Ser Pro Pro Ser Phe
        195                 200                 205
Lys Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ala Ser Ala Thr
    210                 215                 220
His Cys Phe Val Asn Gln Pro Lys Lys Glu Glu Tyr Val Val Tyr Leu
225                 230                 235                 240
Gly Gln Ser Lys Arg Asn Ser Tyr Asn Pro Gly Glu Met Lys Phe Glu
                245                 250                 255
Val Glu Gln Leu Ile Leu His Glu Asp Phe Ser Asp Glu Thr Leu Ala
            260                 265                 270
Phe His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Thr Ser Thr Gly Gln
        275                 280                 285
Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Pro Arg
    290                 295                 300
Phe Gly Asp Ala Pro Phe Gly Ser Asp Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly
305                 310                 315                 320
Gln Glu Ser Ala Thr Asp Tyr Phe Tyr Pro Lys Asp Leu Lys Met Ser
                325                 330                 335
Val Val Lys Ile Ile Ser His Glu Gln Cys Lys Gln Pro His Tyr Tyr
            340                 345                 350
Gly Ser Glu Ile Asn Tyr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Glu Trp
        355                 360                 365
Lys Thr Asp Ser Cys Ser Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Ile Cys Asn
    370                 375                 380
Ile Asp Gly Arg Pro Thr Leu Ser Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly
385                 390                 395                 400
Cys Ala Glu Lys Asn Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Tyr Phe
                405                 410                 415
Leu Asn Trp Ile Gln Ser His Ile Gly Glu Glu Asn Gly Leu Ala Phe
            420                 425                 430
```

<210> 54
<211> 433
<212> PRT
<213> Bos taurus

<220>
<223> u-PA tiền chất

<400> 54

```
Met Arg Val Leu Leu Ala Cys Leu Leu Val Cys Ala Leu Val Val Ser
 1               5                  10                  15
Asp Ser Asp Gly Ser Asn Glu Val His Lys Glu Ser Gly Glu Ser Asn
            20                  25                  30
Cys Gly Cys Leu Asn Gly Gly Lys Cys Val Thr Tyr Lys Tyr Phe Ser
        35                  40                  45
Asn Ile Gln Arg Cys Ser Cys Pro Lys Lys Phe Gln Gly Glu His Cys
    50                  55                  60
Glu Ile Asp Thr Ser Lys Thr Cys Tyr Gln Gly Asn Gly His Ser Tyr
65                  70                  75                  80
Arg Gly Lys Ala Asn Arg Asp Leu Ser Gly Arg Pro Cys Leu Ala Trp
                85                  90                  95
Asp Ser Pro Thr Val Leu Leu Lys Met Tyr His Ala His Arg Ser Asp
            100                 105                 110
Ala Ile Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp
        115                 120                 125
Asn Gln Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Ile Gly Leu Lys Gln Phe
```

```
    130                 135                 140
Val Gln Phe Cys Met Val Gln Asp Cys Ser Val Gly Lys Ser Pro Ser
145                 150                 155                 160
Ser Pro Arg Glu Lys Glu Glu Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg
                165                 170                 175
Pro Arg Phe Lys Ile Val Gly Gly Gln Val Thr Asn Ala Glu Asn Gln
            180                 185                 190
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Ile Thr
        195                 200                 205
Tyr Leu Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala
    210                 215                 220
Thr His Cys Phe Ile Asp His Pro Lys Lys Glu Asn Tyr Ile Val Tyr
225                 230                 235                 240
Leu Gly Gln Ser Arg Leu Asn Ser Asp Thr Arg Gly Glu Met Gln Phe
                245                 250                 255
Glu Val Glu Lys Leu Ile Leu His Glu Asp Tyr Ser Ala Glu Ser Leu
            260                 265                 270
Ala His His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Thr Ser Arg Gly
        275                 280                 285
Gln Cys Ala Gln Pro Ser Arg Ser Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Pro
    290                 295                 300
Glu His Glu Asp Ala His Ser Arg Thr Arg Cys Glu Ile Thr Gly Phe
305                 310                 315                 320
Gly Lys Glu Asn Pro Ser Asp Tyr Arg Tyr Ser Asp Glu Leu Lys Met
                325                 330                 335
Thr Phe Val Ser Leu Val Ser His Glu Val Cys Gln Gln Pro His Tyr
            340                 345                 350
Tyr Gly Ala Glu Val Thr Asp Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
        355                 360                 365
Trp Glu Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
    370                 375                 380
Thr Ile Gln Gly Arg Leu Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg
385                 390                 395                 400
Asp Cys Ala Met Lys Tyr Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Lys
                405                 410                 415
Phe Leu Pro Trp Ile Asn Thr His Thr Arg Gly Glu Ile Asn Leu Val
            420                 425                 430
Leu
```

<210> 55
<211> 442
<212> PRT
<213> Sus scrofa

<220>
<223> u-PA tiền chất

<400> 55

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

```
Arg Gly Lys Ala Asn Thr Asn Thr Gly Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp
                85                  90                  95
Asn Ser Ala Thr Val Leu Leu Asn Thr Tyr His Ala His Arg Pro Asp
            100                 105                 110
Ala Leu Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp
        115                 120                 125
Asn Gln Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Gln Leu
    130                 135                 140
Val Gln Glu Cys Met Val Pro Asn Cys Ser Gly Gly Glu Ser His Arg
145                 150                 155                 160
Pro Ala Tyr Asp Gly Lys Asn Pro Phe Ser Thr Pro Glu Lys Val Glu
                165                 170                 175
Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile Val Gly
            180                 185                 190
Gly Lys Ser Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr
        195                 200                 205
Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly Gly Ser Leu
    210                 215                 220
Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Asn Tyr
225                 230                 235                 240
Gln Gln Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Gln Thr Leu His
                245                 250                 255
Ser Ser Thr His Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Lys Leu Ile Leu
            260                 265                 270
His Glu Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Leu Ala His His Asn Asp Ile Ala
        275                 280                 285
Leu Leu Lys Ile Arg Thr Asp Lys Gly Gln Cys Ala Gln Pro Ser Arg
    290                 295                 300
Ser Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Pro Val Asn Gly Asp Ala His Phe
305                 310                 315                 320
Gly Ala Ser Cys Glu Ile Val Gly Phe Gly Lys Glu Asp Pro Ser Asp
                325                 330                 335
Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Val Ser
            340                 345                 350
His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr
        355                 360                 365
Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln
    370                 375                 380
Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Thr Gln Gly Arg Leu Thr
385                 390                 395                 400
Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Glu Cys Ala Met Lys Asp Lys
                405                 410                 415
Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Arg Phe Leu Thr Trp Ile His Thr
            420                 425                 430
His Val Gly Gly Glu Asn Gly Leu Ala His
        435                 440
```

<210> 56
<211> 433
<212> PRT
<213> Oryctolagus cuniculus

<220>
<223> u-PA tiền chất

<400> 56

```
Met Arg Val Leu Leu Val Cys Leu Leu Leu Cys Ala Leu Val Val Ser
 1               5                  10                  15
Asp Ser Glu Gly Ser His Glu Leu His Gly Val Ser Asp Ala Ser Asn
```

```
            20                  25                  30
Cys Gly Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Thr Tyr Lys Tyr Phe Ser
        35                  40                  45
Asn Ile Trp Arg Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gln Gly Glu His Cys
    50                  55                  60
Glu Ile Asp Thr Leu Lys Thr Cys Tyr His Gly Asp Gly His Ser Tyr
65                  70                  75                  80
Arg Gly Lys Ala Asn Thr Asp Ile Met Asp Arg Pro Cys Leu Ala Trp
                85                  90                  95
Asn Ser Ala Asn Val Leu Thr Lys Thr Tyr His Ala His Arg Pro Asp
            100                 105                 110
Ala Leu Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp
        115                 120                 125
His Gln Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Gln Leu
    130                 135                 140
Ile Gln Glu Cys Lys Val His Asp Cys Ser Ser Gly Lys Lys Pro Ala
145                 150                 155                 160
Leu Pro Pro Gly Lys Leu Glu Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg
                165                 170                 175
Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Ile Ile Glu Asn Gln
            180                 185                 190
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr
        195                 200                 205
Tyr Val Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala
    210                 215                 220
Thr His Cys Phe Ile Asn His Gln Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr
225                 230                 235                 240
Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser Met Thr Pro Gly Glu Met Lys Phe
                245                 250                 255
Glu Val Glu Gln Leu Ile Leu His Glu Gly Tyr Arg Ala Asp Thr Leu
            260                 265                 270
Ala His His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Leu Ser Asn Asn Gly
        275                 280                 285
Gln Cys Ala Gln Pro Ser Arg Ser Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Pro
    290                 295                 300
Trp Asn Ala Asp Pro Asn Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe
305                 310                 315                 320
Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met
                325                 330                 335
Thr Val Val Lys Leu Val Ser Tyr Gln Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr
            340                 345                 350
Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
        355                 360                 365
Trp Glu Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
    370                 375                 380
Ser Val Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg
385                 390                 395                 400
Gly Cys Ala Leu Lys Asn Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Arg
                405                 410                 415
Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His Ile Gly Glu Glu Asn Gly Leu Ala
            420                 425                 430
Leu
```

<210> 57
<211> 434
<212> PRT
<213> Gallus gallus

<220>
<223> u-PA tiền chất

<400> 57
Met Lys Leu Ile Ile Phe Leu Thr Val Thr Leu Cys Thr Leu Val Thr
1 5 10 15
Gly Leu Asp Ser Val Tyr Ile Arg Gln Tyr Tyr Lys Leu Ser His Lys
20 25 30
His Arg Pro Gln His Arg Glu Cys Gln Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys
35 40 45
Ile Thr Tyr Arg Phe Phe Ser Gln Ile Lys Arg Cys Leu Cys Pro Glu
50 55 60
Gly Tyr Gly Gly Leu His Cys Glu Ile Asp Thr Asn Ser Ile Cys Tyr
65 70 75 80
Ser Gly Asn Gly Glu Asp Tyr Arg Gly Met Ala Glu Asp Pro Gly Cys
85 90 95
Leu Tyr Trp Asp His Pro Ser Val Ile Arg Trp Gly Asp Tyr His Ala
100 105 110
Asp Leu Lys Asn Ala Leu Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys
115 120 125
Arg Asn Pro Asn Gly Arg Ser Arg Pro Trp Cys Tyr Thr Lys Arg Arg
130 135 140
Tyr Ser Ile Gln Glu Thr Pro Cys Ser Thr Ile Glu Lys Cys Glu Arg
145 150 155 160
Thr Cys Gly Gln Arg Ser Phe Ser Lys Tyr Phe Lys Ile Val Gly Gly
165 170 175
Ser Gln Ala Glu Val Glu Thr Gln Pro Trp Ile Ala Gly Ile Phe Gln
180 185 190
Asn Ile Met Gly Thr Asp Gln Phe Leu Cys Gly Gly Ser Leu Ile Asp
195 200 205
Pro Cys Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Tyr Asn Pro Thr Lys
210 215 220
Lys Gln Pro Asn Lys Ser Val Tyr Lys Val Phe Leu Gly Lys Ser Ile
225 230 235 240
Leu Asn Thr Asn Asp Glu His Glu Gln Val Phe Met Val Asp Glu Ile
245 250 255
Ile Ser His Pro Asp Phe Thr Asp His Thr Gly Gly Asn Asp Asn Asp
260 265 270
Ile Ala Leu Ile Arg Ile Arg Thr Ala Ser Gly Gln Cys Ala Val Glu
275 280 285
Ser Asn Tyr Val Arg Thr Val Cys Leu Pro Glu Lys Asn Leu Asn Leu
290 295 300
Tyr Asp Asn Thr Trp Cys Glu Ile Ala Gly Tyr Gly Lys Gln Asn Ser
305 310 315 320
Tyr Asp Ile Tyr Tyr Ala Gln Arg Leu Met Ser Ala Thr Val Asn Leu
325 330 335
Ile Ser Gln Asp Asp Cys Lys Asn Lys Tyr Tyr Asp Ser Thr Arg Val
340 345 350
Thr Asp Asn Met Val Cys Ala Gly Asp Pro Leu Trp Glu Thr Asp Ala
355 360 365
Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Met Val Cys Glu His Asn Gly Arg
370 375 380
Met Thr Leu Tyr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Lys Lys
385 390 395 400
Asn Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Thr Arg Tyr Leu Asn Trp Ile
405 410 415
Asp Ser Asn Met Asn Ala Val Phe Thr Lys Ser Arg Ser Phe Arg Glu
420 425 430
Pro Lys

<210> 58
<211> 433
<212> PRT
<213> Papio cynocephalus

<220>
<223> u-PA tiền chất

<400> 58
Met Arg Ala Leu Leu Ala His Leu Leu Leu Cys Val Leu Val Val Ser
1 5 10 15
Ala Ser Lys Gly Ser Arg Glu Leu Gln Val Pro Ser Asp Cys Gly Cys
20 25 30
Leu Asn Gly Gly Thr Cys Met Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Ser Ile His
35 40 45
Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile Asp
50 55 60
Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly Lys
65 70 75 80
Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Ser Cys Leu Ala Trp Asn Ser Ala
85 90 95
Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln
100 105 110
Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Arg
115 120 125
Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Gln Arg Val Gln Glu
130 135 140
Cys Met Val His Asn Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro
145 150 155 160
Glu Glu Leu Gln Phe Gln Cys Gly Gln Arg Thr Leu Arg Pro Arg Phe
165 170 175
Lys Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe
180 185 190
Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys
195 200 205
Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala Thr His Cys
210 215 220
Phe Ile Asn Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg
225 230 235 240
Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu
245 250 255
Asn Leu Ile Leu His Glu Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His
260 265 270
Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala
275 280 285
Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr Asn
290 295 300
Asp Pro Asn Asp Pro Pro Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe
305 310 315 320
Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met
325 330 335
Thr Val Val Lys Leu Val Ser His Gln Lys Cys Gln Gln Pro His Tyr
340 345 350
Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
355 360 365
Trp Glu Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
370 375 380
Ser Ile Gln Gly His Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg

385 390 395 400
Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Arg
405 410 415
Phe Leu Pro Trp Ile His Ser His Thr Arg Glu Gln Asn Gly Leu Ala
420 425 430
Leu

<210> 59
<211> 431
<212> PRT
<213> Pongo abelii

<220>
<223> u-PA tiền chất

<400> 59
Met Arg Ala Leu Leu Ala Arg Leu Leu Leu Cys Val Leu Val Val Ser
1 5 10 15
Asp Ser Lys Gly Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp
20 25 30
Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile
35 40 45
His Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile
50 55 60
Asp Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly
65 70 75 80
Lys Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Ala Trp Asn Ser
85 90 95
Ala Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu
100 105 110
Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg
115 120 125
Trp Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln
130 135 140
Glu Cys Met Val His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro
145 150 155 160
Pro Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg
165 170 175
Phe Lys Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp
180 185 190
Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val
195 200 205
Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala Thr His
210 215 220
Cys Phe Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly
225 230 235 240
Arg Ser Arg Leu Asn Ser His Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val
245 250 255
Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His
260 265 270
His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile His Ser Lys Glu Gly Arg Cys
275 280 285
Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr
290 295 300
Asn Asp Pro Pro Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys
305 310 315 320
Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val
325 330 335

```
Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly
            340                 345                 350
Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys
        355                 360                 365
Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu
    370                 375                 380
Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys
385                 390                 395                 400
Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Tyr Phe Leu
                405                 410                 415
Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
            420                 425                 430


<210> 60
<211> 428
<212> PRT
<213> Canus lupus

<220>
<223> u-PA tiền chất

<400> 60
Met Arg Ala Leu Met Thr Cys Leu Leu Leu Gly Ala Leu Val Gly Ser
 1               5                  10                  15
His Glu Phe His Pro Val Ser Ser Ala Ser Asn Cys Ser Cys Leu Asn
            20                  25                  30
Gly Gly Thr Cys Val Ser Tyr Lys Tyr Phe Ser Asn Ile Gln Arg Cys
        35                  40                  45
Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gln Gly Glu His Cys Glu Ile Asp Thr Ser
    50                  55                  60
Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Ser Tyr Arg Gly Lys Ala Asn
65                  70                  75                  80
Thr Asn Thr Arg Gly Arg Pro Cys Leu Ala Trp Asn Ser Ala Ala Val
                85                  90                  95
Leu Leu Lys Gln Tyr His Ala Leu Arg Pro Asp Ala Leu Gln Leu Gly
            100                 105                 110
Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp His Gln Arg Lys Pro
        115                 120                 125
Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Met Gln Leu Val Gln Glu Cys Thr
    130                 135                 140
Val Gln His Cys Ser Phe Glu Lys Asn Pro His Ser Pro Pro Glu Lys
145                 150                 155                 160
Ala Glu Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile
                165                 170                 175
Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala
            180                 185                 190
Ile Tyr Arg Lys His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Gln Cys Gly Gly
        195                 200                 205
Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala Thr His Cys Phe Ile
    210                 215                 220
Asn Ser Gln Lys Lys Asp Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Lys
225                 230                 235                 240
Arg Ile Ser Lys Thr Phe Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Lys Leu
                245                 250                 255
Ile Leu His Glu Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Leu Ala His His Asn Asp
            260                 265                 270
Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Asp Glu Gly Gln Cys Ala Gln Pro
        275                 280                 285
Ser Arg Ser Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Pro Ser Arg Gly Asp Ala
```

```
    290                 295                 300
His Phe Gly Ala Ser Cys Glu Ile Ser Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser
305                 310                 315                 320
Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu
                325                 330                 335
Val Ser His Gln Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val
            340                 345                 350
Thr Asp Gln Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Glu Trp Glu Thr Asp Ser
        355                 360                 365
Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Thr Gln Gly Arg
    370                 375                 380
Leu Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys Ala Met Lys
385                 390                 395                 400
Asn Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Arg Phe Leu Pro Trp Ile
                405                 410                 415
His Arg His Ile Gly Glu Gln Asn Gly Leu Thr Leu
            420                 425
```

<210> 61
<211> 433
<212> PRT
<213> Ovis aries

<220>
<223> u-PA tiền chất

<400> 61

```
Met Arg Val Leu Leu Ala Cys Leu Leu Val Cys Ala Leu Val Val Ser
 1               5                  10                  15
Asp Ser Asp Gly Ser Asn Glu Val His Lys Glu Ser Gly Val Ser Asp
            20                  25                  30
Cys Gly Cys Leu Asn Gly Gly Lys Cys Val Ser Tyr Lys Tyr Phe Ser
        35                  40                  45
Asn Ile Gln Arg Cys Ser Cys Pro Lys Lys Phe Gln Gly Glu Tyr Cys
    50                  55                  60
Glu Ile Asp Thr Ser Lys Thr Cys Tyr Gln Gly Asn Gly His Ser Tyr
65                  70                  75                  80
Arg Gly Lys Ala Asn Thr Asp Leu Arg Gly Arg Pro Arg Leu Ala Trp
                85                  90                  95
Asp Ser Ala Thr Val Leu Leu Lys Met Tyr His Ala His Arg Ser Asp
            100                 105                 110
Ala Ile Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp
        115                 120                 125
Asn Gln Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Gln Phe
    130                 135                 140
Val Gln Glu Cys Met Val Gln Asp Cys Pro Ala Gly Lys Gly Pro Ser
145                 150                 155                 160
Ser Pro Lys Glu Lys Val Glu Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg
                165                 170                 175
Pro Arg Phe Glu Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Ser Gln
            180                 185                 190
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr
        195                 200                 205
Tyr Leu Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala
    210                 215                 220
Thr His Cys Phe Thr Asn His Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr
225                 230                 235                 240
Leu Gly Arg Ser Lys Leu Asn Ser Asp Thr Leu Gly Glu Met Lys Phe
                245                 250                 255
```

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

<210> 62
<211> 430
<212> PRT
<213> Callithrix jacchus

<220>
<223> u-PA

<400> 62

```
Met Arg Thr Leu Leu Val Arg Leu Leu Leu Cys Val Leu Ile Val Ser
 1               5                  10                  15
Asp Ser Lys Gly Arg Arg Glu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp Cys
            20                  25                  30
Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Ser Lys Tyr Phe Ser Asn Thr Arg
        35                  40                  45
Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Leu His Cys Glu Ile Asp
    50                  55                  60
Asn Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly Lys
65                  70                  75                  80
Ala Lys Thr Asp Ile Met Gly Arg Ser Cys Leu Ser Trp Asn Ser Ala
                85                  90                  95
Ala Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln
            100                 105                 110
Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Arg
        115                 120                 125
Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Gln Leu Val Gln Glu
    130                 135                 140
Cys Thr Val His Asn Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro
145                 150                 155                 160
Ala Glu Leu Glu Phe Gln Cys Gly Gln Lys Pro Leu Thr Pro Arg Phe
                165                 170                 175
Lys Ile Ile Gly Gly Glu Tyr Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe
            180                 185                 190
Ala Ala Ile Tyr Arg Gln His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Leu Cys
```

```
        195                 200                 205
Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala Thr His Cys
    210                 215                 220
Phe Ile Asn His Ala Val Lys Glu Asp Phe Ile Val Tyr Leu Gly Arg
225                 230                 235                 240
Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Pro Gly Glu Met Arg Phe Asp Val Glu
                245                 250                 255
Asn Leu Ile Leu His Glu Gly Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His
            260                 265                 270
Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Lys Cys Ala
        275                 280                 285
Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Pro Met Leu Asn
    290                 295                 300
Asp Ala Arg Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320
Asn Thr Thr Asp Tyr Phe Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val
                325                 330                 335
Lys Leu Val Ser His Gln Glu Cys Gln Gln Pro Asn Tyr Tyr Gly Ser
            340                 345                 350
Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Glu Thr
        355                 360                 365
Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Ile Cys Ser Ile Gln
    370                 375                 380
Gly His Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala
385                 390                 395                 400
Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Arg Phe Leu Pro
                405                 410                 415
Trp Ile Arg Arg His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Pro Ala Val
            420                 425                 430
```

<210> 63
<211> 430
<212> PRT
<213> Macaca mulatta

<220>
<223> u-PA

<400> 63

```
Met Arg Ala Leu Leu Ala His Leu Leu Leu Cys Val Leu Val Val Ser
 1               5                  10                  15
Asp Ser Lys Gly Ser Arg Glu Leu Gln Val Pro Ser Asp Cys Gly Cys
            20                  25                  30
Leu Asn Gly Gly Thr Cys Met Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Ser Ile His
        35                  40                  45
Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile Asp
    50                  55                  60
Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly Lys
65                  70                  75                  80
Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Ser Cys Leu Ala Trp Asn Ser Ala
                85                  90                  95
Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln
            100                 105                 110
Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Arg
        115                 120                 125
Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Gln Leu Val Gln Glu
    130                 135                 140
Cys Met Val Gln Asn Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro
145                 150                 155                 160
```

```
Glu Glu Leu Gln Phe Gln Cys Gly Gln Arg Thr Leu Arg Pro Arg Phe
                165                 170                 175
Lys Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe
            180                 185                 190
Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys
        195                 200                 205
Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala Thr His Cys
    210                 215                 220
Phe Ile Asn Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg
225                 230                 235                 240
Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu
                245                 250                 255
Asn Leu Ile Leu His Glu Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His
            260                 265                 270
Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala
        275                 280                 285
Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Thr Tyr Asn
    290                 295                 300
Asp Pro Pro Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320
Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Arg Leu Lys Met Thr Val Val
                325                 330                 335
Lys Leu Val Ser His Gln Lys Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser
            340                 345                 350
Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Glu Thr
        355                 360                 365
Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Ile Gln
    370                 375                 380
Gly His Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala
385                 390                 395                 400
Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Arg Phe Leu Pro
                405                 410                 415
Trp Ile His Ser His Thr Arg Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
            420                 425                 430
```

<210> 64
<211> 345
<212> PRT
<213> Nomascus leucogenys

<220>
<223> u-PA

<400> 64

```
Met Gly Arg Pro Cys Leu Ala Trp Asn Ser Ala Thr Val Leu Gln Gln
 1               5                  10                  15
Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln Leu Gly Leu Gly Lys
            20                  25                  30
His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Arg Arg Pro Trp Cys Tyr
        35                  40                  45
Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln Glu Cys Met Val His Asp
    50                  55                  60
Cys Thr Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro Glu Glu Leu Gln Phe
65                  70                  75                  80
Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly
                85                  90                  95
Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Arg
            100                 105                 110
Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly Gly Ser Leu Ile
```

```
        115                 120                 125
Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Asp Tyr Pro
    130                 135                 140
Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Ile Tyr Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser
145                 150                 155                 160
Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His
                165                 170                 175
Glu Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His Asn Asp Ile Ala Leu
            180                 185                 190
Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr
        195                 200                 205
Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro His Phe Gly
    210                 215                 220
Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Tyr
225                 230                 235                 240
Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His
                245                 250                 255
Lys Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys
            260                 265                 270
Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly
        275                 280                 285
Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Ile Arg Gly Arg Met Thr Leu
    290                 295                 300
Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro
305                 310                 315                 320
Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His
                325                 330                 335
Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
            340                 345
```

<210> 65
<211> 431
<212> PRT
<213> Pan troglodytes

<220>
<223> u-PA

<400> 65

```
Met Arg Ala Arg Glu Ala Arg Leu Leu Leu Cys Val Leu Val Val Ser
 1               5                  10                  15
Asp Ser Lys Gly Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp
            20                  25                  30
Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile
        35                  40                  45
His Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile
    50                  55                  60
Asp Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly
65                  70                  75                  80
Lys Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Ala Trp Asn Ser
                85                  90                  95
Ala Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu
            100                 105                 110
Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg
        115                 120                 125
Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln
    130                 135                 140
Glu Cys Met Val His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro
145                 150                 155                 160
```

```
Pro Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg
                165                 170                 175
Phe Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp
            180                 185                 190
Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Leu
        195                 200                 205
Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His
    210                 215                 220
Cys Phe Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly
225                 230                 235                 240
Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val
                245                 250                 255
Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His
            260                 265                 270
His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys
        275                 280                 285
Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr
    290                 295                 300
Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val
                325                 330                 335
Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly
            340                 345                 350
Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys
        355                 360                 365
Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu
    370                 375                 380
Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys
385                 390                 395                 400
Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu
                405                 410                 415
Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
            420                 425                 430
```

<210> 66
<211> 413
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> u-PA protein trưởng thành

<400> 66

```
Gly Ser Val Leu Gly Ala Pro Asp Glu Ser Asn Cys Gly Cys Gln Asn
 1               5                  10                  15
Gly Gly Val Cys Val Ser Tyr Lys Tyr Phe Ser Arg Ile Arg Arg Cys
            20                  25                  30
Ser Cys Pro Arg Lys Phe Gln Gly Glu His Cys Glu Ile Asp Ala Ser
        35                  40                  45
Lys Thr Cys Tyr His Gly Asn Gly Asp Ser Tyr Arg Gly Lys Ala Asn
    50                  55                  60
Thr Asp Thr Lys Gly Arg Pro Cys Leu Ala Trp Asn Ala Pro Ala Val
65                  70                  75                  80
Leu Gln Lys Pro Tyr Asn Ala His Arg Pro Asp Ala Ile Ser Leu Gly
                85                  90                  95
Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Gln Lys Arg Pro
            100                 105                 110
Trp Cys Tyr Val Gln Ile Gly Leu Arg Gln Phe Val Gln Glu Cys Met
```

```
        115                 120                 125
Val His Asp Cys Ser Leu Ser Lys Lys Pro Ser Ser Ser Val Asp Gln
    130                 135                 140
Gln Gly Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile
145                 150                 155                 160
Val Gly Gly Glu Phe Thr Glu Val Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala
                165                 170                 175
Ile Tyr Gln Lys Asn Lys Gly Gly Ser Pro Pro Ser Phe Lys Cys Gly
            180                 185                 190
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ala Ser Ala Ala His Cys Phe
        195                 200                 205
Ile Gln Leu Pro Lys Lys Glu Asn Tyr Val Val Tyr Leu Gly Gln Ser
    210                 215                 220
Lys Glu Ser Ser Tyr Asn Pro Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Gln
225                 230                 235                 240
Leu Ile Leu His Glu Tyr Tyr Arg Glu Asp Ser Leu Ala Tyr His Asn
                245                 250                 255
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Thr Ser Thr Gly Gln Cys Ala Gln
            260                 265                 270
Pro Ser Arg Ser Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Pro Arg Phe Thr Asp
        275                 280                 285
Ala Pro Phe Gly Ser Asp Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Ser
    290                 295                 300
Glu Ser Asp Tyr Leu Tyr Pro Lys Asn Leu Lys Met Ser Val Val Lys
305                 310                 315                 320
Leu Val Ser His Glu Gln Cys Met Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                325                 330                 335
Ile Asn Tyr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Glu Trp Lys Thr Asp
            340                 345                 350
Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Ile Cys Asn Ile Glu Gly
        355                 360                 365
Arg Pro Thr Leu Ser Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Glu
    370                 375                 380
Lys Asn Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Asp Trp
385                 390                 395                 400
Ile Gln Ser His Ile Gly Glu Glu Lys Gly Leu Ala Phe
                405                 410
```

<210> 67
<211> 413
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<220>
<223> u-PA protein trưởng thành

<400> 67

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

```
Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Gln Arg Arg Pro
            100                 105                 110
Trp Cys Tyr Val Gln Ile Gly Leu Lys Gln Phe Val Gln Glu Cys Met
        115                 120                 125
Val Gln Asp Cys Ser Leu Ser Lys Lys Pro Ser Ser Thr Val Asp Gln
    130                 135                 140
Gln Gly Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile
145                 150                 155                 160
Val Gly Gly Glu Phe Thr Val Val Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala
                165                 170                 175
Ile Tyr Leu Lys Asn Lys Gly Gly Ser Pro Pro Ser Phe Lys Cys Gly
            180                 185                 190
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ala Ser Ala Thr His Cys Phe
        195                 200                 205
Val Asn Gln Pro Lys Lys Glu Glu Tyr Val Val Tyr Leu Gly Gln Ser
    210                 215                 220
Lys Arg Asn Ser Tyr Asn Pro Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Gln
225                 230                 235                 240
Leu Ile Leu His Glu Asp Phe Ser Asp Glu Thr Leu Ala Phe His Asn
                245                 250                 255
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Thr Ser Thr Gly Gln Cys Ala Gln
            260                 265                 270
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Pro Arg Phe Gly Asp
        275                 280                 285
Ala Pro Phe Gly Ser Asp Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Gln Glu Ser
    290                 295                 300
Ala Thr Asp Tyr Phe Tyr Pro Lys Asp Leu Lys Met Ser Val Val Lys
305                 310                 315                 320
Ile Ile Ser His Glu Gln Cys Lys Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                325                 330                 335
Ile Asn Tyr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Glu Trp Lys Thr Asp
            340                 345                 350
Ser Cys Ser Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Ile Cys Asn Ile Asp Gly
        355                 360                 365
Arg Pro Thr Leu Ser Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys Ala Glu
    370                 375                 380
Lys Asn Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Tyr Phe Leu Asn Trp
385                 390                 395                 400
Ile Gln Ser His Ile Gly Glu Glu Asn Gly Leu Ala Phe
                405                 410
```

<210> 68
<211> 413
<212> PRT
<213> Bos taurus

<220>
<223> u-PA protein trưởng thành

<400> 68

```
Ser Asn Glu Val His Lys Glu Ser Gly Glu Ser Asn Cys Gly Cys Leu
 1               5                  10                  15
Asn Gly Gly Lys Cys Val Thr Tyr Lys Tyr Phe Ser Asn Ile Gln Arg
            20                  25                  30
Cys Ser Cys Pro Lys Lys Phe Gln Gly Glu His Cys Glu Ile Asp Thr
        35                  40                  45
Ser Lys Thr Cys Tyr Gln Gly Asn Gly His Ser Tyr Arg Gly Lys Ala
    50                  55                  60
Asn Arg Asp Leu Ser Gly Arg Pro Cys Leu Ala Trp Asp Ser Pro Thr
```

65 70 75 80
Val Leu Leu Lys Met Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Ile Gln Leu
85 90 95
Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Gln Arg Arg
100 105 110
Pro Trp Cys Tyr Val Gln Ile Gly Leu Lys Gln Phe Val Gln Phe Cys
115 120 125
Met Val Gln Asp Cys Ser Val Gly Lys Ser Pro Ser Ser Pro Arg Glu
130 135 140
Lys Glu Glu Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg Pro Arg Phe Lys
145 150 155 160
Ile Val Gly Gly Gln Val Thr Asn Ala Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
165 170 175
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Ile Thr Tyr Leu Cys Gly
180 185 190
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala Thr His Cys Phe
195 200 205
Ile Asp His Pro Lys Lys Glu Asn Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Gln Ser
210 215 220
Arg Leu Asn Ser Asp Thr Arg Gly Glu Met Gln Phe Glu Val Glu Lys
225 230 235 240
Leu Ile Leu His Glu Asp Tyr Ser Ala Glu Ser Leu Ala His His Asn
245 250 255
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Thr Ser Arg Gly Gln Cys Ala Gln
260 265 270
Pro Ser Arg Ser Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Pro Glu His Glu Asp
275 280 285
Ala His Ser Arg Thr Arg Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
290 295 300
Pro Ser Asp Tyr Arg Tyr Ser Asp Glu Leu Lys Met Thr Phe Val Ser
305 310 315 320
Leu Val Ser His Glu Val Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ala Glu
325 330 335
Val Thr Asp Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Glu Thr Asp
340 345 350
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Thr Ile Gln Gly
355 360 365
Arg Leu Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Asp Cys Ala Met
370 375 380
Lys Tyr Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Lys Phe Leu Pro Trp
385 390 395 400
Ile Asn Thr His Thr Arg Gly Glu Ile Asn Leu Val Leu
405 410

<210> 69
<211> 422
<212> PRT
<213> Sus scrofa

<220>
<223> u-PA protein trưởng thành

<400> 69
Ser His Glu Leu His Gln Glu Ser Gly Ala Ser Asn Cys Gly Cys Leu
1 5 10 15
Asn Gly Gly Lys Cys Val Ser Tyr Lys Tyr Phe Ser Asn Ile Gln Arg
20 25 30
Cys Ser Cys Pro Lys Lys Phe Gln Gly Glu His Cys Glu Ile Asp Thr
35 40 45

```
Ser Gln Thr Cys Phe Glu Gly Asn Gly His Ser Tyr Arg Gly Lys Ala
    50                  55                  60
Asn Thr Asn Thr Gly Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser Ala Thr
65                  70                  75                  80
Val Leu Leu Asn Thr Tyr His Ala His Arg Pro Asp Ala Leu Gln Leu
                85                  90                  95
Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Gln Arg Arg
            100                 105                 110
Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Gln Leu Val Gln Glu Cys
        115                 120                 125
Met Val Pro Asn Cys Ser Gly Gly Glu Ser His Arg Pro Ala Tyr Asp
    130                 135                 140
Gly Lys Asn Pro Phe Ser Thr Pro Glu Lys Val Glu Phe Gln Cys Gly
145                 150                 155                 160
Gln Lys Ala Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile Val Gly Gly Lys Ser Thr
                165                 170                 175
Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg
            180                 185                 190
Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys
        195                 200                 205
Trp Val Val Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Asn Tyr Gln Gln Lys Glu
    210                 215                 220
Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Gln Thr Leu His Ser Ser Thr His
225                 230                 235                 240
Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Lys Leu Ile Leu His Glu Asp Tyr
                245                 250                 255
Ser Ala Asp Ser Leu Ala His His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile
            260                 265                 270
Arg Thr Asp Lys Gly Gln Cys Ala Gln Pro Ser Arg Ser Ile Gln Thr
        275                 280                 285
Ile Cys Leu Pro Pro Val Asn Gly Asp Ala His Phe Gly Ala Ser Cys
    290                 295                 300
Glu Ile Val Gly Phe Gly Lys Glu Asp Pro Ser Asp Tyr Leu Tyr Pro
305                 310                 315                 320
Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Val Ser His Arg Glu Cys
                325                 330                 335
Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys
            340                 345                 350
Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly
        355                 360                 365
Gly Pro Leu Val Cys Ser Thr Gln Gly Arg Leu Thr Leu Thr Gly Ile
    370                 375                 380
Val Ser Trp Gly Arg Glu Cys Ala Met Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr
385                 390                 395                 400
Thr Arg Val Ser Arg Phe Leu Thr Trp Ile His Thr His Val Gly Gly
                405                 410                 415
Glu Asn Gly Leu Ala His
            420
```

<210> 70
<211> 417
<212> PRT
<213> Oryctolagus cuniculus

<220>
<223> u-PA protein trưởng thành

<400> 70
Asp Ser Glu Gly Ser His Glu Leu His Gly Val Ser Asp Ala Ser Asn

```
 1               5                  10                  15
Cys Gly Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Thr Tyr Lys Tyr Phe Ser
            20                  25                  30
Asn Ile Trp Arg Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gln Gly Glu His Cys
        35                  40                  45
Glu Ile Asp Thr Leu Lys Thr Cys Tyr His Gly Asp Gly His Ser Tyr
    50                  55                  60
Arg Gly Lys Ala Asn Thr Asp Ile Met Asp Arg Pro Cys Leu Ala Trp
65                  70                  75                  80
Asn Ser Ala Asn Val Leu Thr Lys Thr Tyr His Ala His Arg Pro Asp
                85                  90                  95
Ala Leu Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp
            100                 105                 110
His Gln Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Gln Leu
        115                 120                 125
Ile Gln Glu Cys Lys Val His Asp Cys Ser Ser Gly Lys Lys Pro Ala
    130                 135                 140
Leu Pro Pro Gly Lys Leu Glu Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg
145                 150                 155                 160
Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Ile Ile Glu Asn Gln
                165                 170                 175
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr
            180                 185                 190
Tyr Val Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala
        195                 200                 205
Thr His Cys Phe Ile Asn His Gln Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr
    210                 215                 220
Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser Met Thr Pro Gly Glu Met Lys Phe
225                 230                 235                 240
Glu Val Glu Gln Leu Ile Leu His Glu Gly Tyr Arg Ala Asp Thr Leu
                245                 250                 255
Ala His His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Leu Ser Asn Asn Gly
            260                 265                 270
Gln Cys Ala Gln Pro Ser Arg Ser Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Pro
        275                 280                 285
Trp Asn Ala Asp Pro Asn Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe
    290                 295                 300
Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met
305                 310                 315                 320
Thr Val Val Lys Leu Val Ser Tyr Gln Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr
                325                 330                 335
Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
            340                 345                 350
Trp Glu Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
        355                 360                 365
Ser Val Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg
    370                 375                 380
Gly Cys Ala Leu Lys Asn Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Arg
385                 390                 395                 400
Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His Ile Gly Glu Glu Asn Gly Leu Ala
                405                 410                 415
Leu
```

<210> 71
<211> 414
<212> PRT
<213> Gallus gallus

<220>
<223> u-PA protein trưởng thành

<400> 71
Val Tyr Ile Arg Gln Tyr Tyr Lys Leu Ser His Lys His Arg Pro Gln
1 5 10 15
His Arg Glu Cys Gln Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Ile Thr Tyr Arg
20 25 30
Phe Phe Ser Gln Ile Lys Arg Cys Leu Cys Pro Glu Gly Tyr Gly Gly
35 40 45
Leu His Cys Glu Ile Asp Thr Asn Ser Ile Cys Tyr Ser Gly Asn Gly
50 55 60
Glu Asp Tyr Arg Gly Met Ala Glu Asp Pro Gly Cys Leu Tyr Trp Asp
65 70 75 80
His Pro Ser Val Ile Arg Trp Gly Asp Tyr His Ala Asp Leu Lys Asn
85 90 95
Ala Leu Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asn
100 105 110
Gly Arg Ser Arg Pro Trp Cys Tyr Thr Lys Arg Arg Tyr Ser Ile Gln
115 120 125
Glu Thr Pro Cys Ser Thr Ile Glu Lys Cys Glu Arg Thr Cys Gly Gln
130 135 140
Arg Ser Phe Ser Lys Tyr Phe Lys Ile Val Gly Gly Ser Gln Ala Glu
145 150 155 160
Val Glu Thr Gln Pro Trp Ile Ala Gly Ile Phe Gln Asn Ile Met Gly
165 170 175
Thr Asp Gln Phe Leu Cys Gly Gly Ser Leu Ile Asp Pro Cys Trp Val
180 185 190
Leu Thr Ala Ala His Cys Phe Tyr Asn Pro Thr Lys Lys Gln Pro Asn
195 200 205
Lys Ser Val Tyr Lys Val Phe Leu Gly Lys Ser Ile Leu Asn Thr Asn
210 215 220
Asp Glu His Glu Gln Val Phe Met Val Asp Glu Ile Ile Ser His Pro
225 230 235 240
Asp Phe Thr Asp His Thr Gly Gly Asn Asp Asn Asp Ile Ala Leu Ile
245 250 255
Arg Ile Arg Thr Ala Ser Gly Gln Cys Ala Val Glu Ser Asn Tyr Val
260 265 270
Arg Thr Val Cys Leu Pro Glu Lys Asn Leu Asn Leu Tyr Asp Asn Thr
275 280 285
Trp Cys Glu Ile Ala Gly Tyr Gly Lys Gln Asn Ser Tyr Asp Ile Tyr
290 295 300
Tyr Ala Gln Arg Leu Met Ser Ala Thr Val Asn Leu Ile Ser Gln Asp
305 310 315 320
Asp Cys Lys Asn Lys Tyr Tyr Asp Ser Thr Arg Val Thr Asp Asn Met
325 330 335
Val Cys Ala Gly Asp Pro Leu Trp Glu Thr Asp Ala Cys Lys Gly Asp
340 345 350
Ser Gly Gly Pro Met Val Cys Glu His Asn Gly Arg Met Thr Leu Tyr
355 360 365
Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Lys Lys Asn Lys Pro Gly
370 375 380
Val Tyr Thr Arg Val Thr Arg Tyr Leu Asn Trp Ile Asp Ser Asn Met
385 390 395 400
Asn Ala Val Phe Thr Lys Ser Arg Ser Phe Arg Glu Pro Lys
405 410

<210> 72
<211> 413

<212> PRT
<213> Papio cynocephalus

<220>
<223> u-PA protein trưởng thành

<400> 72
Ser Arg Glu Leu Gln Val Pro Ser Asp Cys Gly Cys Leu Asn Gly Gly
1 5 10 15
Thr Cys Met Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Ser Ile His Trp Cys Asn Cys
20 25 30
Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile Asp Lys Ser Lys Thr
35 40 45
Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly Lys Ala Ser Thr Asp
50 55 60
Thr Met Gly Arg Ser Cys Leu Ala Trp Asn Ser Ala Thr Val Leu Gln
65 70 75 80
Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln Leu Gly Leu Gly
85 90 95
Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Arg Arg Pro Trp Cys
100 105 110
Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Gln Arg Val Gln Glu Cys Met Val His
115 120 125
Asn Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro Glu Glu Leu Gln
130 135 140
Phe Gln Cys Gly Gln Arg Thr Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile Val Gly
145 150 155 160
Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr
165 170 175
Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly Gly Ser Leu
180 185 190
Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Asn Tyr
195 200 205
Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn
210 215 220
Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu
225 230 235 240
His Glu Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His Asn Asp Ile Ala
245 250 255
Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg
260 265 270
Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Asn Asp
275 280 285
Pro Pro Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
290 295 300
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
305 310 315 320
Leu Val Ser His Gln Lys Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
325 330 335
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Glu Thr Asp
340 345 350
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Ile Gln Gly
355 360 365
His Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
370 375 380
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Arg Phe Leu Pro Trp
385 390 395 400
Ile His Ser His Thr Arg Glu Gln Asn Gly Leu Ala Leu
405 410

<210> 73
<211> 411
<212> PRT
<213> Pongo abelii

<220>
<223> u-PA protein trưởng thành

<400> 73
Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp Cys Leu Asn Gly
1 5 10 15
Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile His Trp Cys Asn
20 25 30
Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile Asp Lys Ser Lys
35 40 45
Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly Lys Ala Ser Thr
50 55 60
Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Ala Trp Asn Ser Ala Thr Val Leu
65 70 75 80
Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln Leu Gly Leu
85 90 95
Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Trp Arg Pro Trp
100 105 110
Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln Glu Cys Met Val
115 120 125
His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro Glu Glu Leu
130 135 140
Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile Val
145 150 155 160
Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile
165 170 175
Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly Gly Ser
180 185 190
Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Asp
195 200 205
Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Arg Leu
210 215 220
Asn Ser His Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn Leu Ile
225 230 235 240
Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His Asn Asp Ile
245 250 255
Ala Leu Leu Lys Ile His Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
260 265 270
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Pro
275 280 285
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
290 295 300
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
305 310 315 320
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
325 330 335
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
340 345 350
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
355 360 365
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp
370 375 380
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Tyr Phe Leu Pro Trp Ile Arg
385 390 395 400

Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
405 410

<210> 74
<211> 404
<212> PRT
<213> Canis lupus

<220>
<223> u-PA protein trưởng thành

<400> 74
Ala Ser Asn Cys Ser Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Tyr Lys
1 5 10 15
Tyr Phe Ser Asn Ile Gln Arg Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gln Gly
20 25 30
Glu His Cys Glu Ile Asp Thr Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly
35 40 45
His Ser Tyr Arg Gly Lys Ala Asn Thr Asn Thr Arg Gly Arg Pro Cys
50 55 60
Leu Ala Trp Asn Ser Ala Ala Val Leu Leu Lys Gln Tyr His Ala Leu
65 70 75 80
Arg Pro Asp Ala Leu Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg
85 90 95
Asn Pro Asp His Gln Arg Lys Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu
100 105 110
Met Gln Leu Val Gln Glu Cys Thr Val Gln His Cys Ser Phe Glu Lys
115 120 125
Asn Pro His Ser Pro Pro Glu Lys Ala Glu Phe Gln Cys Gly Gln Lys
130 135 140
Ala Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile
145 150 155 160
Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Lys His Arg Gly Gly
165 170 175
Ser Val Thr Tyr Gln Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val
180 185 190
Val Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Asn Ser Gln Lys Lys Asp Asp Tyr
195 200 205
Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Lys Arg Ile Ser Lys Thr Phe Gly Glu
210 215 220
Met Lys Phe Glu Val Glu Lys Leu Ile Leu His Glu Asp Tyr Ser Ala
225 230 235 240
Asp Ser Leu Ala His His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser
245 250 255
Asp Glu Gly Gln Cys Ala Gln Pro Ser Arg Ser Ile Gln Thr Ile Cys
260 265 270
Leu Pro Pro Ser Arg Gly Asp Ala His Phe Gly Ala Ser Cys Glu Ile
275 280 285
Ser Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln
290 295 300
Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Val Ser His Gln Glu Cys Gln Gln
305 310 315 320
Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr Asp Gln Met Leu Cys Ala Ala
325 330 335
Asp Pro Glu Trp Glu Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro
340 345 350
Leu Val Cys Ser Thr Gln Gly Arg Leu Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser
355 360 365
Trp Gly Ser Gly Cys Ala Met Lys Asn Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg

```
    370                 375                 380
Val Ser Arg Phe Leu Pro Trp Ile His Arg His Ile Gly Glu Gln Asn
385                 390                 395                 400
Gly Leu Thr Leu
```

<210> 75
<211> 413
<212> PRT
<213> Ovis aries

<220>
<223> u-PA protein trưởng thành

<400> 75

```
Ser Asn Glu Val His Lys Glu Ser Gly Val Ser Asp Cys Gly Cys Leu
 1               5                  10                  15
Asn Gly Gly Lys Cys Val Ser Tyr Lys Tyr Phe Ser Asn Ile Gln Arg
            20                  25                  30
Cys Ser Cys Pro Lys Lys Phe Gln Gly Glu Tyr Cys Glu Ile Asp Thr
        35                  40                  45
Ser Lys Thr Cys Tyr Gln Gly Asn Gly His Ser Tyr Arg Gly Lys Ala
    50                  55                  60
Asn Thr Asp Leu Arg Gly Arg Pro Arg Leu Ala Trp Asp Ser Ala Thr
65                  70                  75                  80
Val Leu Leu Lys Met Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Ile Gln Leu
                85                  90                  95
Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Gln Arg Arg
            100                 105                 110
Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Gln Phe Val Gln Glu Cys
        115                 120                 125
Met Val Gln Asp Cys Pro Ala Gly Lys Gly Pro Ser Ser Pro Lys Glu
    130                 135                 140
Lys Val Glu Phe Gln Cys Gly Gln Lys Ala Leu Arg Pro Arg Phe Glu
145                 150                 155                 160
Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Ser Gln Pro Trp Phe Ala
                165                 170                 175
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Leu Cys Gly
            180                 185                 190
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Val Ser Ala Thr His Cys Phe
        195                 200                 205
Thr Asn His Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    210                 215                 220
Lys Leu Asn Ser Asp Thr Leu Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Lys
225                 230                 235                 240
Leu Ile Leu His Glu Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Leu Ala His His Asn
                245                 250                 255
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Thr Ser Arg Gly Gln Cys Ala Gln
            260                 265                 270
Pro Ser Arg Ser Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Pro Leu Tyr Gly Asp
        275                 280                 285
Ala Arg Phe Gly Thr Arg Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    290                 295                 300
Pro Ser Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Phe Val Asn
305                 310                 315                 320
Leu Val Ser His Glu Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Thr Glu
                325                 330                 335
Val Thr Asp Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Glu Thr Asp
            340                 345                 350
```

Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Thr Ile Gln Gly
355 360 365
Arg Leu Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Glu Cys Ala Met
370 375 380
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Lys Phe Leu Pro Trp
385 390 395 400
Ile Tyr Thr His Thr Arg Gly Glu Ile Asp Leu Gly Leu
405 410

<210> 76
<211> 263
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> polypeptit chymotrypsin trưởng thành

<400> 76
Met Ala Phe Leu Trp Leu Leu Ser Cys Trp Ala Leu Leu Gly Thr Thr
1 5 10 15
Phe Gly Cys Gly Val Pro Ala Ile His Pro Val Leu Ser Gly Leu Ser
20 25 30
Arg Ile Val Asn Gly Glu Asp Ala Val Pro Gly Ser Trp Pro Trp Gln
35 40 45
Val Ser Leu Gln Asp Lys Thr Gly Phe His Phe Cys Gly Gly Ser Leu
50 55 60
Ile Ser Glu Asp Trp Val Val Thr Ala Ala His Cys Gly Val Arg Thr
65 70 75 80
Ser Asp Val Val Val Ala Gly Glu Phe Asp Gln Gly Ser Asp Glu Glu
85 90 95
Asn Ile Gln Val Leu Lys Ile Ala Lys Val Phe Lys Asn Pro Lys Phe
100 105 110
Ser Ile Leu Thr Val Asn Asn Asp Ile Thr Leu Leu Lys Leu Ala Thr
115 120 125
Pro Ala Arg Phe Ser Gln Thr Val Ser Ala Val Cys Leu Pro Ser Ala
130 135 140
Asp Asp Asp Phe Pro Ala Gly Thr Leu Cys Ala Thr Thr Gly Trp Gly
145 150 155 160
Lys Thr Lys Tyr Asn Ala Asn Lys Thr Pro Asp Lys Leu Gln Gln Ala
165 170 175
Ala Leu Pro Leu Leu Ser Asn Ala Glu Cys Lys Lys Ser Trp Gly Arg
180 185 190
Arg Ile Thr Asp Val Met Ile Cys Ala Gly Ala Ser Gly Val Ser Ser
195 200 205
Cys Met Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Gln Lys Asp Gly Ala
210 215 220
Trp Thr Leu Val Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Asp Thr Cys Ser Thr
225 230 235 240
Ser Ser Pro Gly Val Tyr Ala Arg Val Thr Lys Leu Ile Pro Trp Val
245 250 255
Gln Lys Ile Leu Ala Ala Asn
260

<210> 77
<211> 1636
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trưởng thành 2 chuỗi C3 protein

<400> 77

```
Pro Met Tyr Ser Ile Ile Thr Pro Asn Ile Leu Arg Leu Glu Ser Glu
 1               5                  10                  15
Glu Thr Met Val Leu Glu Ala His Asp Ala Gln Gly Asp Val Pro Val
            20                  25                  30
Thr Val Thr Val His Asp Phe Pro Gly Lys Lys Leu Val Leu Ser Ser
        35                  40                  45
Glu Lys Thr Val Leu Thr Pro Ala Thr Asn His Met Gly Asn Val Thr
    50                  55                  60
Phe Thr Ile Pro Ala Asn Arg Glu Phe Lys Ser Glu Lys Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Lys Phe Val Thr Val Gln Ala Thr Phe Gly Thr Gln Val Val Glu Lys
                85                  90                  95
Val Val Leu Val Ser Leu Gln Ser Gly Tyr Leu Phe Ile Gln Thr Asp
            100                 105                 110
Lys Thr Ile Tyr Thr Pro Gly Ser Thr Val Leu Tyr Arg Ile Phe Thr
        115                 120                 125
Val Asn His Lys Leu Leu Pro Val Gly Arg Thr Val Met Val Asn Ile
    130                 135                 140
Glu Asn Pro Glu Gly Ile Pro Val Lys Gln Asp Ser Leu Ser Ser Gln
145                 150                 155                 160
Asn Gln Leu Gly Val Leu Pro Leu Ser Trp Asp Ile Pro Glu Leu Val
                165                 170                 175
Asn Met Gly Gln Trp Lys Ile Arg Ala Tyr Tyr Glu Asn Ser Pro Gln
            180                 185                 190
Gln Val Phe Ser Thr Glu Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu Pro Ser
        195                 200                 205
Phe Glu Val Ile Val Glu Pro Thr Glu Lys Phe Tyr Tyr Ile Tyr Asn
    210                 215                 220
Glu Lys Gly Leu Glu Val Thr Ile Thr Ala Arg Phe Leu Tyr Gly Lys
225                 230                 235                 240
Lys Val Glu Gly Thr Ala Phe Val Ile Phe Gly Ile Gln Asp Gly Glu
                245                 250                 255
Gln Arg Ile Ser Leu Pro Glu Ser Leu Lys Arg Ile Pro Ile Glu Asp
            260                 265                 270
Gly Ser Gly Glu Val Val Leu Ser Arg Lys Val Leu Leu Asp Gly Val
        275                 280                 285
Gln Asn Pro Arg Ala Glu Asp Leu Val Gly Lys Ser Leu Tyr Val Ser
    290                 295                 300
Ala Thr Val Ile Leu His Ser Gly Ser Asp Met Val Gln Ala Glu Arg
305                 310                 315                 320
Ser Gly Ile Pro Ile Val Thr Ser Pro Tyr Gln Ile His Phe Thr Lys
                325                 330                 335
Thr Pro Lys Tyr Phe Lys Pro Gly Met Pro Phe Asp Leu Met Val Phe
            340                 345                 350
Val Thr Asn Pro Asp Gly Ser Pro Ala Tyr Arg Val Pro Val Ala Val
        355                 360                 365
Gln Gly Glu Asp Thr Val Gln Ser Leu Thr Gln Gly Asp Gly Val Ala
    370                 375                 380
Lys Leu Ser Ile Asn Thr His Pro Ser Gln Lys Pro Leu Ser Ile Thr
385                 390                 395                 400
Val Arg Thr Lys Lys Gln Glu Leu Ser Glu Ala Glu Gln Ala Thr Arg
                405                 410                 415
Thr Met Gln Ala Leu Pro Tyr Ser Thr Val Gly Asn Ser Asn Asn Tyr
            420                 425                 430
Leu His Leu Ser Val Leu Arg Thr Glu Leu Arg Pro Gly Glu Thr Leu
        435                 440                 445
```

```
Asn Val Asn Phe Leu Leu Arg Met Asp Arg Ala His Glu Ala Lys Ile
    450                 455                 460
Arg Tyr Tyr Thr Tyr Leu Ile Met Asn Lys Gly Arg Leu Leu Lys Ala
465                 470                 475                 480
Gly Arg Gln Val Arg Glu Pro Gly Gln Asp Leu Val Val Leu Pro Leu
                485                 490                 495
Ser Ile Thr Thr Asp Phe Ile Pro Ser Phe Arg Leu Val Ala Tyr Tyr
            500                 505                 510
Thr Leu Ile Gly Ala Ser Gly Gln Arg Glu Val Val Ala Asp Ser Val
        515                 520                 525
Trp Val Asp Val Lys Asp Ser Cys Val Gly Ser Leu Val Val Lys Ser
    530                 535                 540
Gly Gln Ser Glu Asp Arg Gln Pro Val Pro Gly Gln Gln Met Thr Leu
545                 550                 555                 560
Lys Ile Glu Gly Asp His Gly Ala Arg Val Val Leu Val Ala Val Asp
                565                 570                 575
Lys Gly Val Phe Val Leu Asn Lys Lys Asn Lys Leu Thr Gln Ser Lys
            580                 585                 590
Ile Trp Asp Val Val Glu Lys Ala Asp Ile Gly Cys Thr Pro Gly Ser
        595                 600                 605
Gly Lys Asp Tyr Ala Gly Val Phe Ser Asp Ala Gly Leu Thr Phe Thr
    610                 615                 620
Ser Ser Ser Gly Gln Gln Thr Ala Gln Arg Ala Glu Leu Gln Cys Pro
625                 630                 635                 640
Gln Pro Ala Ala Ser Val Gln Leu Thr Glu Lys Arg Met Asp Lys Val
                645                 650                 655
Gly Lys Tyr Pro Lys Glu Leu Arg Lys Cys Cys Glu Asp Gly Met Arg
            660                 665                 670
Glu Asn Pro Met Arg Phe Ser Cys Gln Arg Arg Thr Arg Phe Ile Ser
        675                 680                 685
Leu Gly Glu Ala Cys Lys Lys Val Phe Leu Asp Cys Cys Asn Tyr Ile
    690                 695                 700
Thr Glu Leu Arg Arg Gln His Ala Arg Ala Ser His Leu Gly Leu Ala
705                 710                 715                 720
Arg Ser Asn Leu Asp Glu Asp Ile Ile Ala Glu Glu Asn Ile Val Ser
                725                 730                 735
Arg Ser Glu Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Asn Val Glu Asp Leu Lys
            740                 745                 750
Glu Pro Pro Lys Asn Gly Ile Ser Thr Lys Leu Met Asn Ile Phe Leu
        755                 760                 765
Lys Asp Ser Ile Thr Thr Trp Glu Ile Leu Ala Val Ser Met Ser Asp
    770                 775                 780
Lys Lys Gly Ile Cys Val Ala Asp Pro Phe Glu Val Thr Val Met Gln
785                 790                 795                 800
Asp Phe Phe Ile Asp Leu Arg Leu Pro Tyr Ser Val Val Arg Asn Glu
                805                 810                 815
Gln Val Glu Ile Arg Ala Val Leu Tyr Asn Tyr Arg Gln Asn Gln Glu
            820                 825                 830
Leu Lys Val Arg Val Glu Leu Leu His Asn Pro Ala Phe Cys Ser Leu
        835                 840                 845
Ala Thr Thr Lys Arg Arg His Gln Gln Thr Val Thr Ile Pro Pro Lys
    850                 855                 860
Ser Ser Leu Ser Val Pro Tyr Val Ile Val Pro Leu Lys Thr Gly Leu
865                 870                 875                 880
Gln Glu Val Glu Val Lys Ala Ala Val Tyr His His Phe Ile Ser Asp
                885                 890                 895
Gly Val Arg Lys Ser Leu Lys Val Val Pro Glu Gly Ile Arg Met Asn
            900                 905                 910
Lys Thr Val Ala Val Arg Thr Leu Asp Pro Glu Arg Leu Gly Arg Glu
        915                 920                 925
```

Gly Val Gln Lys Glu Asp Ile Pro Pro Ala Asp Leu Ser Asp Gln Val
930 935 940
Pro Asp Thr Glu Ser Glu Thr Arg Ile Leu Leu Gln Gly Thr Pro Val
945 950 955 960
Ala Gln Met Thr Glu Asp Ala Val Asp Ala Glu Arg Leu Lys His Leu
965 970 975
Ile Val Thr Pro Ser Gly Cys Gly Glu Gln Asn Met Ile Gly Met Thr
980 985 990
Pro Thr Val Ile Ala Val His Tyr Leu Asp Glu Thr Glu Gln Trp Glu
995 1000 1005
Lys Phe Gly Leu Glu Lys Arg Gln Gly Ala Leu Glu Leu Ile Lys Lys
1010 1015 1020
Gly Tyr Thr Gln Gln Leu Ala Phe Arg Gln Pro Ser Ser Ala Phe Ala
1025 1030 1035 1040
Ala Phe Val Lys Arg Ala Pro Ser Thr Trp Leu Thr Ala Tyr Val Val
1045 1050 1055
Lys Val Phe Ser Leu Ala Val Asn Leu Ile Ala Ile Asp Ser Gln Val
1060 1065 1070
Leu Cys Gly Ala Val Lys Trp Leu Ile Leu Glu Lys Gln Lys Pro Asp
1075 1080 1085
Gly Val Phe Gln Glu Asp Ala Pro Val Ile His Gln Glu Met Ile Gly
1090 1095 1100
Gly Leu Arg Asn Asn Asn Glu Lys Asp Met Ala Leu Thr Ala Phe Val
1105 1110 1115 1120
Leu Ile Ser Leu Gln Glu Ala Lys Asp Ile Cys Glu Glu Gln Val Asn
1125 1130 1135
Ser Leu Pro Gly Ser Ile Thr Lys Ala Gly Asp Phe Leu Glu Ala Asn
1140 1145 1150
Tyr Met Asn Leu Gln Arg Ser Tyr Thr Val Ala Ile Ala Gly Tyr Ala
1155 1160 1165
Leu Ala Gln Met Gly Arg Leu Lys Gly Pro Leu Leu Asn Lys Phe Leu
1170 1175 1180
Thr Thr Ala Lys Asp Lys Asn Arg Trp Glu Asp Pro Gly Lys Gln Leu
1185 1190 1195 1200
Tyr Asn Val Glu Ala Thr Ser Tyr Ala Leu Leu Ala Leu Leu Gln Leu
1205 1210 1215
Lys Asp Phe Asp Phe Val Pro Pro Val Val Arg Trp Leu Asn Glu Gln
1220 1225 1230
Arg Tyr Tyr Gly Gly Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Ala Thr Phe Met Val
1235 1240 1245
Phe Gln Ala Leu Ala Gln Tyr Gln Lys Asp Ala Pro Asp His Gln Glu
1250 1255 1260
Leu Asn Leu Asp Val Ser Leu Gln Leu Pro Ser Arg Ser Ser Lys Ile
1265 1270 1275 1280
Thr His Arg Ile His Trp Glu Ser Ala Ser Leu Leu Arg Ser Glu Glu
1285 1290 1295
Thr Lys Glu Asn Glu Gly Phe Thr Val Thr Ala Glu Gly Lys Gly Gln
1300 1305 1310
Gly Thr Leu Ser Val Val Thr Met Tyr His Ala Lys Ala Lys Asp Gln
1315 1320 1325
Leu Thr Cys Asn Lys Phe Asp Leu Lys Val Thr Ile Lys Pro Ala Pro
1330 1335 1340
Glu Thr Glu Lys Arg Pro Gln Asp Ala Lys Asn Thr Met Ile Leu Glu
1345 1350 1355 1360
Ile Cys Thr Arg Tyr Arg Gly Asp Gln Asp Ala Thr Met Ser Ile Leu
1365 1370 1375
Asp Ile Ser Met Met Thr Gly Phe Ala Pro Asp Thr Asp Asp Leu Lys
1380 1385 1390
Gln Leu Ala Asn Gly Val Asp Arg Tyr Ile Ser Lys Tyr Glu Leu Asp
1395 1400 1405

Lys Ala Phe Ser Asp Arg Asn Thr Leu Ile Ile Tyr Leu Asp Lys Val
1410 1415 1420
Ser His Ser Glu Asp Asp Cys Leu Ala Phe Lys Val His Gln Tyr Phe
1425 1430 1435 1440
Asn Val Glu Leu Ile Gln Pro Gly Ala Val Lys Val Tyr Ala Tyr Tyr
1445 1450 1455
Asn Leu Glu Glu Ser Cys Thr Arg Phe Tyr His Pro Glu Lys Glu Asp
1460 1465 1470
Gly Lys Leu Asn Lys Leu Cys Arg Asp Glu Leu Cys Arg Cys Ala Glu
1475 1480 1485
Glu Asn Cys Phe Ile Gln Lys Ser Asp Asp Lys Val Thr Leu Glu Glu
1490 1495 1500
Arg Leu Asp Lys Ala Cys Glu Pro Gly Val Asp Tyr Val Tyr Lys Thr
1505 1510 1515 1520
Arg Leu Val Lys Val Gln Leu Ser Asn Asp Phe Asp Glu Tyr Ile Met
1525 1530 1535
Ala Ile Glu Gln Thr Ile Lys Ser Gly Ser Asp Glu Val Gln Val Gly
1540 1545 1550
Gln Gln Arg Thr Phe Ile Ser Pro Ile Lys Cys Arg Glu Ala Leu Lys
1555 1560 1565
Leu Glu Glu Lys Lys His Tyr Leu Met Trp Gly Leu Ser Ser Asp Phe
1570 1575 1580
Trp Gly Glu Lys Pro Asn Leu Ser Tyr Ile Ile Gly Lys Asp Thr Trp
1585 1590 1595 1600
Val Glu His Trp Pro Glu Glu Asp Glu Cys Gln Asp Glu Glu Asn Gln
1605 1610 1615
Lys Gln Cys Gln Asp Leu Gly Ala Phe Thr Glu Ser Met Val Val Phe
1620 1625 1630
Gly Cys Pro Asn
1635

<210> 78
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> C3 vị trí phân cắt convertaza 748-749

<400> 78
Gly Leu Ala Arg
1

<210> 79
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Vị trí phân cắt yếu tố I 954-955

<400> 79
Arg Leu Gly Arg
1

<210> 80
<211> 4

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Vị trí phân cắt yếu tố I 1303-1304

<400> 80
Leu Pro Ser Arg
1

<210> 81
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Vị trí phân cắt yếu tố I 1320-1321

<400> 81
Ser Leu Leu Arg
1

<210> 82
<211> 21
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Buforin II

<400> 82
Thr Arg Ser Ser Arg Ala Gly Leu Gln Phe Pro Val Gly Arg Val His
1 5 10 15
Arg Leu Leu Arg Lys
20

<210> 83
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DPV3

<400> 83
Arg Lys Lys Arg Arg Arg Glu Ser Arg Lys Lys Arg Arg Arg Glu Ser
1 5 10 15

<210> 84
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DPV6

<400> 84
Gly Arg Pro Arg Glu Ser Gly Lys Lys Arg Lys Arg Lys Arg Leu Lys
1 5 10 15
Pro

<210> 85
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DPV7

<400> 85
Gly Lys Arg Lys Lys Lys Gly Lys Leu Gly Lys Lys Arg Asp Pro
1 5 10 15

<210> 86
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DPV7b

<400> 86
Gly Lys Arg Lys Lys Lys Gly Lys Leu Gly Lys Lys Arg Pro Arg Ser
1 5 10 15
Arg

<210> 87
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DPV3/10

<400> 87
Arg Lys Lys Arg Arg Arg Glu Ser Arg Arg Ala Arg Arg Ser Pro Arg
1 5 10 15
His Leu

<210> 88
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DPV10/6

<400> 88
Ser Arg Arg Ala Arg Arg Ser Pro Arg Glu Ser Gly Lys Lys Arg Lys

1 5 10 15
Arg Lys Arg

<210> 89
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DPV1047

<400> 89
Val Lys Arg Gly Leu Lys Leu Arg His Val Arg Pro Arg Val Thr Arg
1 5 10 15
Met Asp Val

<210> 90
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DPV1048

<400> 90
Val Lys Arg Gly Leu Lys Leu Arg His Val Arg Pro Arg Val Thr Arg
1 5 10 15
Asp Val

<210> 91
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DPV10

<400> 91
Ser Arg Arg Ala Arg Arg Ser Pro Arg His Leu Gly Ser Gly
1 5 10

<210> 92
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DPV15

<400> 92
Leu Arg Arg Glu Arg Gln Ser Arg Leu Arg Arg Glu Arg Gln Ser Arg
1 5 10 15

<210> 93
<211> 22
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DPV15b

<400> 93
Gly Ala Tyr Asp Leu Arg Arg Arg Glu Arg Gln Ser Arg Leu Arg Arg
1 5 10 15
Arg Glu Arg Gln Ser Arg
20

<210> 94
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> GALA

<400> 94
Trp Glu Ala Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu His
1 5 10 15
Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu Glu Ala Leu Ala Ala
20 25 30

<210> 95
<211> 21
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Fibrinogen beta chuỗi

<400> 95
Lys Gly Ser Trp Tyr Ser Met Arg Lys Met Ser Met Lys Ile Arg Pro
1 5 10 15
Phe Phe Pro Gln Gln
20

<210> 96
<211> 20
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Fibrinogen gamma tiền chất chuỗi

<400> 96
Lys Thr Arg Tyr Tyr Ser Met Lys Lys Thr Thr Met Lys Ile Ile Pro
1 5 10 15
Phe Asn Arg Leu

20

<210> 97
<211> 20
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Fibrinogen alpha chuỗi

<400> 97
Arg Gly Ala Asp Tyr Ser Leu Arg Ala Val Arg Met Lys Ile Arg Pro
1 5 10 15
Leu Val Thr Gln
20

<210> 98
<211> 24
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hCT(9-32)

<400> 98
Leu Gly Thr Tyr Thr Gln Asp Phe Asn Lys Phe His Thr Phe Pro Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ile Gly Val Gly Ala Pro
20

<210> 99
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HN-1

<400> 99
Thr Ser Pro Leu Asn Ile His Asn Gly Gln Lys Leu
1 5 10

<210> 100
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Influenza virut nucleoprotein (NLS)

<400> 100
Asn Ser Ala Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Ser

1 5 10

<210> 101
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KALA

<400> 101
Trp Glu Ala Lys Leu Ala Lys Ala Leu Ala Lys Ala Leu Ala Lys His
1 5 10 15
Leu Ala Lys Ala Leu Ala Lys Ala Leu Lys Ala Cys Glu Ala
20 25 30

<210> 102
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Ku70

<400> 102
Val Pro Met Leu Lys Pro Met Leu Lys Glu
1 5 10

<210> 103
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> MAP

<400> 103
Lys Leu Ala Leu Lys Leu Ala Leu Lys Ala Leu Lys Ala Ala Leu Lys
1 5 10 15
Leu Ala

<210> 104
<211> 27
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> MPG

<400> 104
Gly Ala Leu Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly
1 5 10 15
Ala Trp Ser Gln Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
20 25

<210> 105
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi của người 4 (Kaposi Yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi)

<400> 105
Ala Ala Val Ala Leu Leu Pro Ala Val Leu Leu Ala Leu Leu Ala Pro
1 5 10 15

<210> 106
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> N50 (NLS của NF-kB P50)

<400> 106
Val Gln Arg Lys Arg Gln Lys Leu Met
1 5

<210> 107
<211> 21
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Pep-1

<400> 107
Lys Glu Thr Trp Trp Glu Thr Trp Trp Thr Glu Trp Ser Gln Pro Lys
1 5 10 15
Lys Lys Arg Lys Val
20

<210> 108
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Pep-7

<400> 108
Ser Asp Leu Trp Glu Met Met Met Val Ser Leu Ala Cys Gln Tyr
1 5 10 15

<210> 109
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Penetratin

<400> 109
Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 110
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Penetratin biến thể

<400> 110
Gly Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys
1 5 10 15
Lys

<210> 111
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Penetratin ngắn

<400> 111
Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5

<210> 112
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Penetratin 42-58

<400> 112
Glu Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys
1 5 10 15
Lys

<210> 113
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Poly Arginin - R7

<400> 113
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5

<210> 114
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Poly Arginin - R9

<400> 114
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5

<210> 115
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> pISL

<400> 115
Arg Val Ile Arg Val Trp Phe Gln Asn Lys Arg Cys Lys Asp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 116
<211> 28
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Prion chuột PrPc1-28

<400> 116
Met Ala Asn Leu Gly Tyr Trp Leu Leu Ala Leu Phe Val Thr Met Trp
1 5 10 15
Thr Asp Val Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro
20 25

<210> 117
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> pVEC

<400> 117
Leu Leu Ile Ile Leu Arg Arg Arg Ile Arg Lys Gln Ala His Ala His
1 5 10 15
Ser Lys

<210> 118
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> pVEC biến thể

<400> 118
Leu Leu Ile Ile Leu Arg Arg Arg Ile Arg Lys Gln Ala His Ala His
1 5 10 15

<210> 119
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> SAP

<400> 119
Val Arg Leu Pro Pro Pro Val Arg Leu Pro Pro Pro Val Arg Leu Pro
1 5 10 15
Pro Pro

<210> 120
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> SV-40 (NLS)

<400> 120
Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
1 5

<210> 121
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> SynB1

<400> 121
Arg Gly Gly Arg Leu Ser Tyr Ser Arg Arg Arg Phe Ser Thr Ser Thr
1 5 10 15
Gly Arg

<210> 122
<211> 10
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> SynB3

<400> 122
Arg Arg Leu Ser Tyr Ser Arg Arg Arg Phe
 1   5   10

<210> 123
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> SynB4

<400> 123
Ala Trp Ser Phe Arg Val Ser Tyr Arg Gly Ile Ser Tyr Arg Arg Ser
 1   5   10   15
Arg

<210> 124
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 47-60

<400> 124
Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln
 1   5   10

<210> 125
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 47-57

<400> 125
Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
 1   5   10

<210> 126
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 47-56

<400> 126

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg
1 5 10

<210> 127
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 48-56

<400> 127
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg
1 5

<210> 128
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 48-57

<400> 128
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

<210> 129
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 49-57

<400> 129
Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5

<210> 130
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 49-56

<400> 130
Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg
1 5

<210> 131
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 48-60

<400> 131
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln
1 5 10

<210> 132
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 48-52

<400> 132
Gly Arg Lys Lys Arg
1 5

<210> 133
<211> 36
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 37-72

<400> 133
Cys Phe Ile Thr Lys Ala Leu Gly Ile Ser Tyr Gly Arg Lys Lys Arg
1 5 10 15
Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln Phe Ser Gln Thr His Gln Val Ser
20 25 30
Leu Ser Lys Gln
35

<210> 134
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 38-72

<400> 134
Phe Ile Thr Lys Ala Leu Gly Ile Ser Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg
1 5 10 15
Gln Arg Arg Arg Pro Gln Phe Ser Gln Thr His Gln Val Ser Leu Ser
20 25 30
Lys Gln

<210> 135
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tat 47-59

<400> 135
Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro
 1   5   10

<210> 136
<211> 27
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Transportan

<400> 136
Gly Trp Thr Leu Asn Ser Ala Gly Tyr Leu Leu Gly Lys Ile Asn Leu
 1   5   10   15
Lys Ala Leu Ala Ala Leu Ala Lys Lys Ile Leu
            20   25

<210> 137
<211> 21
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Transportan 10

<400> 137
Ala Gly Tyr Leu Leu Gly Lys Ile Asn Leu Lys Ala Leu Ala Ala Leu
 1   5   10   15
Ala Lys Lys Ile Leu
            20

<210> 138
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Transportan dẫn xuất

<400> 138
Gly Trp Thr Leu Asn Ser Ala Gly Tyr Leu Leu Gly
 1   5   10

<210> 139
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Transportan dẫn xuất

<400> 139
Ile Asn Leu Lys Ala Leu Ala Ala Leu Ala Lys Lys Ile Leu
 1   5   10

<210> 140
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VP22

<400> 140
Asp Ala Ala Thr Ala Thr Arg Gly Arg Ser Ala Ala Ser Arg Pro Thr
 1   5   10   15
Glu Arg Pro Arg Ala Pro Ala Arg Ser Ala Ser Arg Pro Arg Arg Pro
            20   25   30
Val Asp

<210> 141
<211> 26
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VT5

<400> 141
Asp Pro Lys Gly Asp Pro Lys Gly Val Thr Val Thr Val Thr Val Thr
 1   5   10   15
Val Thr Gly Lys Gly Asp Pro Lys Pro Asp
            20   25

<210> 142
<211> 27
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit dựa trên trình tự tín hiệu

<400> 142
Gly Ala Leu Phe Leu Gly Trp Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly
 1   5   10   15
Ala Trp Ser Gln Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
            20   25

<210> 143
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit mẫu lưỡng tính

<400> 143
Lys Leu Ala Leu Lys Leu Ala Leu Lys Ala Leu Lys Ala Ala Leu Lys
1 5 10 15
Leu Ala

<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Thấm thành tế bào vi khuẩn

<400> 144
Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys Phe Phe Lys
1 5 10

<210> 145
<211> 37
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> LL- 37

<400> 145
Leu Leu Gly Asp Phe Phe Arg Lys Ser Lys Glu Lys Ile Gly Lys Glu
1 5 10 15
Phe Lys Arg Ile Val Gln Arg Ile Lys Asp Phe Leu Arg Asn Leu Val
20 25 30
Pro Arg Thr Glu Ser
35

<210> 146
<211> 31
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cecropin P1

<400> 146
Ser Trp Leu Ser Lys Thr Ala Lys Lys Leu Glu Asn Ser Ala Lys Lys
1 5 10 15
Arg Ile Ser Glu Gly Ile Ala Ile Ala Ile Gln Gly Gly Pro Arg
20 25 30

<210> 147
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> alpha defensin

<400> 147
Ala Cys Tyr Cys Arg Ile Pro Ala Cys Ile Ala Gly Glu Arg Arg Tyr
1 5 10 15
Gly Thr Cys Ile Tyr Gln Gly Arg Leu Trp Ala Phe Cys Cys
20 25 30

<210> 148
<211> 36
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> beta defensin

<400> 148
Asp His Tyr Asn Cys Val Ser Ser Gly Gly Gln Cys Leu Tyr Ser Ala
1 5 10 15
Cys Pro Ile Phe Thr Lys Ile Gln Gly Thr Cys Tyr Arg Gly Lys Ala
20 25 30
Lys Cys Cys Lys
35

<210> 149
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Bactenecin

<400> 149
Arg Lys Cys Arg Ile Trp Ile Arg Val Cys Arg
1 5 10

<210> 150
<211> 42
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> PR- 39

<400> 150
Arg Arg Arg Pro Arg Pro Pro Tyr Leu Pro Arg Pro Arg Pro Pro Pro
1 5 10 15
Phe Phe Pro Pro Arg Leu Pro Pro Arg Ile Pro Pro Gly Phe Pro Pro
20 25 30
Arg Phe Pro Pro Arg Phe Pro Gly Lys Arg
35 40

<210> 151
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Indolicidin

<400> 151
Ile Leu Pro Trp Lys Trp Pro Trp Trp Pro Trp Arg Arg
 1   5   10

<210> 152
<211> 27
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> MPS

<400> 152
Gly Ala Leu Phe Leu Gly Trp Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly
 1   5   10   15
Ala Trp Ser Gln Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val
            20   25

<210> 153
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> pIs1

<400> 153
Pro Val Ile Arg Arg Val Trp Phe Gln Asn Lys Arg Cys Lys Asp Lys
 1   5   10   15
Lys

<210> 154
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
      miền proteaza V38D/T97adel/L97bdel/C122S

<400> 154
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1   5   10   15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20   25   30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35   40   45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50   55   60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65   70   75   80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ala His His Asn Asp Ile
                85   90   95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser

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

<210> 155
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza L73R/L97bG/H99Q/C122S

<400> 155

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Arg Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
```

225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 156
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L73R/L97bG/H99Q/C122S

<400> 156
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Arg Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 157
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza L97bP/H99L/C122S

<400> 157
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala

```
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Pro Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 158
<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aP/V38D/V41R/A96D/D97G/T97aN/A98G/L97bdel/H99L/
C122S/M157K/R217F

<400> 158

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Pro Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Asn Gly Leu His Asn Asp
                85                  90                  95
Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro
            100                 105                 110
Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro
```

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

<210> 159
<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/G37bD/V38D/V41R/A96D/D97G/T97aN/A98G/L97bdel
/H99L/C122S/R217F

<400> 159

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Asp Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Asn Gly Leu His Asn Asp
                85                  90                  95
Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro
            100                 105                 110
Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro
        115                 120                 125
Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser
    130                 135                 140
Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu
145                 150                 155                 160
Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val
                165                 170                 175
Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser
            180                 185                 190
Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg
        195                 200                 205
Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Phe Gly Cys Ala Leu Lys
    210                 215                 220
Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile
```

225 230 235 240
Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 160
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/V41R/A96D/D97G/A98R/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/M157K/R217D

<400> 160
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Arg Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 161
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aH/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bde

1/C122S/S174P/R217D

<400> 161
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Pro Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 162
<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aH/V38D/V41G/A96G/D97E/T97aA/A98G/L97bdel/H99M/
C122S/Y151N

<400> 162
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gly Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Gly Glu Ala Gly Met His Asn Asp

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

<210> 163
<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/Y40L/V41R/A96P/D97V/T97aR/A98G/L97bdel/H99L/C122S

<400> 163

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Pro Val Arg Gly Leu His Asn Asp
                85                  90                  95
Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro
            100                 105                 110
Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro
        115                 120                 125
Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser
    130                 135                 140
Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu
145                 150                 155                 160
Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val
                165                 170                 175
Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser
            180                 185                 190
Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg
```

```
        195                 200                 205
Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys
    210                 215                 220
Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile
225                 230                 235                 240
Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 164
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/M157K/R217D

<400> 164

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 165
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Q192E/R217D

<400> 165
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 166
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/M157K/R217D

<400> 166
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 167
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/Y40P/V41K/L97bA/H99Q/C122S

<400> 167

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Pro Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 168
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/Y40P/V41K/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 168

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Pro Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 169
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96E/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122
S/Y151L/T178S/Q192E/R217D

<400> 169
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Glu Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Ser Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 170
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/R217D

<400> 170
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 171
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/Y151L/M157K

<400> 171

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
```

```
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 172
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/Y151F/M157K

<400> 172

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Phe Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 173
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/Y151L/M157K

<400> 173
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 174
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151F/M157K

<400> 174
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 175
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151M/M157K

<400> 175

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Met Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
```

```
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 176
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/Y151L/M157K

<400> 176

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Asn Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 177
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/Y151F/M157K

<400> 177
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Asn Leu Phe Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 178
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/M157K

<400> 178
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 179
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/Y151F/M157K

<400> 179

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Phe Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
```

```
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 180
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/Y149N/Y151F/M157K

<400> 180

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Asn Leu Phe Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 181
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/V41R/L97bV/H99Q/C122S/Y149N/Y151F/M157K

<400> 181
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Asn Leu Phe Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 182
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/R217G

<400> 182
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 183
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/R217E

<400> 183

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
```

```
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 184
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/R217D

<400> 184

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 185
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K/R
217G

<400> 185
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gly Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 186
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K/R
217E

<400> 186
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 187
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K/R
217D

<400> 187

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
```

```
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 188
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K/R217G

<400> 188

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Phe Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gly Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 189
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K/R
217E

<400> 189
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Phe Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 190
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K/R
217D

<400> 190
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala

```
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Phe Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 191
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K/R217E

<400> 191

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 192
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K/R217G

<400> 192

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gly Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
```

225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 193
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/H37D/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M1
57K/R217E

<400> 193
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Asp Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 194
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/H37D/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M1

57K/R217G

<400> 194
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Asp Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gly Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 195
<211> 254
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K

<400> 195
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His His
85 90 95

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

<210> 196
<211> 254
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K

<400> 196

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His His
                85                  90                  95
Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala
            100                 105                 110
Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn
        115                 120                 125
Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu
    130                 135                 140
Asn Ser Thr Asp Phe Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val
145                 150                 155                 160
Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser
                165                 170                 175
Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr
            180                 185                 190
Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln
        195                 200                 205
Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala
```

```
    210                 215                 220
Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro
225                 230                 235                 240
Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 197
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I17L/F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 197

```
Ile Leu Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 198
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

I17V/F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 198
Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 199
<211> 254
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/M157K

<400> 199
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His His
85 90 95

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

<210> 200
<211> 254
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M1
57K

<400> 200

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His His
                85                  90                  95
Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala
            100                 105                 110
Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn
        115                 120                 125
Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu
    130                 135                 140
Asn Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val
145                 150                 155                 160
Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser
                165                 170                 175
Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr
            180                 185                 190
Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln
        195                 200                 205
```

Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala
210 215 220
Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro
225 230 235 240
Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 201
<211> 254
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/M1
57K

<400> 201
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His His
85 90 95
Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala
100 105 110
Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn
115 120 125
Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu
130 135 140
Asn Ser Thr Asp Trp Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val
145 150 155 160
Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser
165 170 175
Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr
180 185 190
Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln
195 200 205
Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala
210 215 220
Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro
225 230 235 240
Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 202
<211> 254
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M157K

<400> 202
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His His
85 90 95
Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala
100 105 110
Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn
115 120 125
Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu
130 135 140
Asn Ser Thr Asp Phe Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val
145 150 155 160
Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser
165 170 175
Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr
180 185 190
Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln
195 200 205
Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala
210 215 220
Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro
225 230 235 240
Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 203
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 203
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn

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

<210> 204
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K

<400> 204
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 205
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149F/M1
57K

<400> 205

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Phe Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 206
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 206
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 207
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y14
9L/M157K

<400> 207
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 208
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/M157K

<400> 208

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Trp Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 209
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y14
9F/M157K

<400> 209

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Phe Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 210
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 210
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 211
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/T56A/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 211
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Ala His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 212
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151F/M157K

<400> 212

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

Ser Thr Asp Tyr Leu Phe Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 213
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A

<400> 213
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Ala Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 214
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A

<400> 214
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Ala Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 215
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R37aH/V38D/Y40Q/V41I/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M
157W/Q192Y

<400> 215
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Asp Thr Gln Ile Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Trp Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Tyr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 216
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I17V/F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149H/M157K

<400> 216

```
Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Trp Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
```

```
    130                 135                 140
Ser Thr Asp His Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 217
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C12
2S/Y149H/M157K/T158A

<400> 217

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Trp Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp His Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Ala Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
```

245 250

<210> 218
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I17V/F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149H/M157K/T158A

<400> 218
Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Trp Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp His Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Ala Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 219
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I17V/F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A

<400> 219
Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Ala Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 220
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S

<400> 220
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp

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

<210> 221
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37W/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 221

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln His Trp Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
```

225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 222
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I17V/F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 222
Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 223
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I17V/F30Y/R35Q/R36H/H37W/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97b

A/H99Q/C122S/M157K

<400> 223
Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Trp Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 224
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A

<400> 224
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ala Ile Ala Gln His Asn

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

<210> 225
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I17V/F30Y/R35Q/R36H/H37W/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/M157K/T158A

<400> 225

```
Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln His Trp Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Ala Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
```

```
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 226
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49R/M157K

<400> 226

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ala Ile Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 227
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I17V/F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 227
Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 228
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 228
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Trp Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 229
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 229

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
```

```
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 230
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C12
2S/M157K

<400> 230

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Glu Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 231
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/R37aH/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 231
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His His Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Glu Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 232
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 232
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30

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

<210> 233
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/R37aH/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 233

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His His Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Glu Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 234
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/H37D/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149S/M157K

<400> 234

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Asp Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Glu Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Ser Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 235
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H9
9Q/C122S/Y149L/M157K

<400> 235
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 236
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49Q/M157K/R217S

<400> 236

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Gln Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 237
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38Y/Y40H/V41R/D60aE/Y60bE/L97bA/H99Q/C1
22S/Y149V/M157K/R217M

<400> 237

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Tyr Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Glu Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
```

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

<210> 238
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bS/L97bA/H99Q/C1
22S/Y149T/M157K

<400> 238

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Glu Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Thr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 239
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bE/L97bA/H99Q/C1
22S/Y149L/M157K/R217S

<400> 239
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 240
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

F30Y/R35Q/H37Y/V38D/Y40H/V41R/Y60bE/L97bA/H99Q/C12
2S/Y149R/M157K

<400> 240
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 241
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/Q192H

<400> 241
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn

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

<210> 242
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/I65T/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 242

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Thr Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
```

```
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 243
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M1
57K

<400> 243

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 244
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K/Q192H

<400> 244
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 245
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
N26D/F30Y/R36H/R37aH/V38E/Y40H/V41R/K61E/I65T/L97bA/H99Q/C122S/M126I/M157K

<400> 245
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asp Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His His Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Glu Lys Glu Asp Tyr Thr Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 246
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza N26D/F30Y/V38D/Y40H/V41R/I65T/L97bA/H99Q/C122S/M126I/M157K/Q192H

<400> 246

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asp Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Thr Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Ile Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
```

```
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 247
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza N26D/F30Y/V38D/Y40L/V41R/I65T/L97bA/H99Q/C122S/M126I/M157K

<400> 247

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asp Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Thr Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Ile Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 248

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
N26D/F30Y/V38D/Y40H/V41R/I65T/L97bA/H99Q/C122S/M12
6I/Y149R/M157K

<400> 248
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asp Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Thr Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Ile Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 249
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/I65T/T97aI/L97bA/H99Q/C12
2S/Y149R/M157K

<400> 249
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Thr Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 250
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 250

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 251
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/Q192H

<400> 251

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 252
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K/Q192H

<400> 252
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 253
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39S/Y40H/V41W/Y60bW/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192Y

<400> 253
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala

```
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Ser His Trp Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Trp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Tyr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 254
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bH/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192A

<400> 254

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp His Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 255
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39Q/Y40H/V41W/Y60bW/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192F

<400> 255

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Gln His Trp Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Trp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Phe Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
```

225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 256
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39R/Y40H/V41W/Y60bW/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192Y

<400> 256
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Arg His Trp Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Trp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Tyr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 257
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39S/Y40H/V41W/Y60bW/T97a

I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192F

<400> 257
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Ser His Trp Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Trp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Phe Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 258
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39R/Y40H/V41W/Y60bW/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H

<400> 258
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Arg His Trp Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Trp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn

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

<210> 259
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39R/Y40H/V41W/Y60bW/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192F

<400> 259

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Arg His Trp Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Trp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Phe Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
```

```
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 260
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I17V/F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ
/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 260

```
Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 261
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36Q/H37E/V38A/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61D
/I65V/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 261
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Gln Glu Arg Gly Gly Ser Ala Trp His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Asp Lys Glu Asp Tyr Val Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 262
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36Q/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61L
/I65V/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 262
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Gln Glu Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Leu Lys Glu Asp Tyr Val Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 263
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36A/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61D
/I65R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 263

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp Ala Glu Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Gln Pro Asp Lys Glu Asp Tyr Arg Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
```

```
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 264
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36K/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/K61E
/I65T/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 264

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp Lys Glu Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Gln Pro Glu Lys Glu Asp Tyr Thr Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 265

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bQ/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 265
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 266
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K/Q192P

<400> 266
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Pro Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 267
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/Y40Q/V41Q/D60aP/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S/Y149W

<400> 267

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Trp Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 268
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/Y40Q/V41L/D60aP/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S/Y149W

<400> 268

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1                5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Trp Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 269
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ/T97a
E/L97bA/H99L/C122S/Y149K/M157K

<400> 269
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 270
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/M1
57K

<400> 270
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala

```
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 271
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C12
2S/Y149R/M157K

<400> 271

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 272
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/M157K

<400> 272

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
```

225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 273
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 273
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 274
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza L97bA/H99Q/C122S

<400> 274
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 275
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/Y149R/M157K

<400> 275
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln

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

<210> 276
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61R/K62R/
T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 276

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Arg Arg Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
```

```
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 277
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K82R/T97aI
/L97bA/H99Q/K110aR/C122S/Y149R/M157K

<400> 277

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Arg Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Arg Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 278
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)

miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K92R/T97aI
/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 278
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Arg Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 279
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K92S/T97aI
/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 279
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn

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

<210> 280
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K/K179R

<400> 280
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Arg Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 281
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K/K179S

<400> 281

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Ser Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 282
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K/K187S/K223S/K224Y

<400> 282
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Ser Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Ser Asp Tyr Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 283
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 283
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 284
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S

<400> 284

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
```

145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 285
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 285
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 286
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97
bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 286
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 287
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61S/K62S/
T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 287
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala

```
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Ser Ser Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 288
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/K82S/T97aI
/L97bA/H99Q/K110aS/C122S/Y149R/M157K

<400> 288

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Ser Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Ser Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 289
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K/K187R/K223R/K224R

<400> 289

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Arg Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Arg Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
```

225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 290
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97
bA/H99Q/C122S

<400> 290
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 291
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/T97aI/L

97bA/H99Q/C122S

<400> 291
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Pro Asn Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 292
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 292
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn

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

<210> 293
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38E/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S

<400> 293

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
```

```
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 294
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38E/T97aE/L97bA/H99Q/C122S

<400> 294

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 295
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38E/T97aI/L97bA/H99Q/C122S

<400> 295
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 296
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D

<400> 296
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp

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

<210> 297
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217E

<400> 297

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
```

245 250

<210> 298
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/K224R

<400> 298
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 299
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38D/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 299
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala

```
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Asp Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 300
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35Q/H37Y/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 300

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 301
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38E/V41L/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S

<400> 301

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
```

245 250

<210> 302
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza L97bG/H99Q/C122S/R217Q

<400> 302
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 303
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/H99Q/C122S/R217Q

<400> 303
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 304
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bG/C122S/R217Q

<400> 304

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
```

```
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 305
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bG/H99Q/C122S

<400> 305

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 306

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bG/H99Q/C122S/S195A/R217Q

<400> 306
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ala Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 307
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40Q/Y60bL/L97bA/H99Q/C122S

<400> 307
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 308
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38E/Y40Q/L97bA/H99Q/C122S

<400> 308

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1                  5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 309
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38E/Y40Q/V41L/L97bA/C122S

<400> 309

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 310
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40Q/L97bA/H99Q/C122S

<400> 310
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 311
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
T39L/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S

<400> 311
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Leu Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 312
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S

<400> 312

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
```

```
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 313
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S

<400> 313

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Leu Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 314
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39L/Y40L/T97aI/L97bA/H99Q/C122S

<400> 314
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Leu Leu Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 315
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39L/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S

<400> 315
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Leu Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 316
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aI/H99Q/C122S

<400> 316

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Leu Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Leu Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
```

```
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 317
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V

<400> 317

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 318
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)

miền proteaza V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/R217V

<400> 318
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 319
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/Y40L/V41K/L97bR/H99L/C122S/E175D

<400> 319
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Leu His Asn
85 90 95

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

<210> 320
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39L/Y40L/V41K/L97bR/H99L/C122S/E175D

<400> 320

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Leu Leu Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
```

```
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 321
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/C122S

<400> 321

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Leu Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 322
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L

<400> 322
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 323
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/
C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 323
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Asp Asp Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
85 90 95

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

<210> 324
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 324

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Arg Asp Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 325
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 325
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Gly Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 326
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/
C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 326
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Asp Gly Ser Val His Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 327
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/
C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 327
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Asp Gly Ser Phe Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 328
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/
C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 328

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Asp Gly Ser Phe His Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
```

```
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 329
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/T97aS/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 329

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Asp Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 330
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 330
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Asp Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 331
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 331
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Asp Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
20 25 30

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

<210> 332
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/
C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 332

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Asp Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 333
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/
H99E/C122S/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 333

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Asp Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 334
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/
H99E/C122S/Y151L/Q192T/R217E/K224R

<400> 334
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Asp Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 335
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/
H99E/C122S/Y151L/E175D/R217E/K224R

<400> 335

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Asp Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 336
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/
H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/K224R

<400> 336

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly His His Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
```

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

<210> 337
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/
H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E

<400> 337

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly His His Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 338
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C122S/Y
151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 338
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Gly Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 339
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E

<400> 339
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Gly Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 340
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E

<400> 340
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Asp Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 341
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza H37G/R37aD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E

<400> 341

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Gly Gly Ser Phe His Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
```

Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 342
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/C122S/S190H/G216A

<400> 342
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
His Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Ala Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 343
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V41L/L97bA/H99Q/C122S

<400> 343
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 344
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40Q/V41L/C122S

<400> 344
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala His His Asn
85 90 95

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

<210> 345
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40Q/V41L/H99Q/C122S

<400> 345

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 346
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 346
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 347
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza R37aE/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S

<400> 347

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Glu Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 348
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aE/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 348

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Glu Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 349
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 349

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
```

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 350
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
Y40Q/V41L/Y60bT/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 350
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 351
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 351

Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 352
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza R37aE/Y40Q/V41L/L97bA/C122S

<400> 352
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Glu Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125

```
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 353
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40Q/V41L/L97bA/C122S/Y149R

<400> 353

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 354
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza R37aE/Y40Q/V41L/L97bA/C122S/Y149R

<400> 354
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Glu Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 355
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aE/Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 355
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Glu Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 356
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35K/Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 356

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Lys Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 357
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aD/Y40Q/V41L/Y60bT/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 357

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Asp Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 358
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/Y40Q/V41L/Y60bT/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 358
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 359
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aE/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 359
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Glu Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 360
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35V/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 360

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Val Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 361
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aD/Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 361

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Asp Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 362
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35V/R37aE/V38E/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/
Y149R

<400> 362
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val Arg His Glu Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 363
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35V/R37aE/Y40Q/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 363
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15

```
Ala Ile Tyr Val Arg His Glu Gly Gly Ser Val Thr Gln Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 364
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y
149R

<400> 364

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Val Arg His Glu Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
```

Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 365
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y
149R

<400> 365
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val Arg His Glu Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 366
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/H99Q/C122S/Y149R

<400> 366
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val Arg His Glu Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Leu Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 367
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/C122S/Y149R

<400> 367
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val Arg His Glu Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 368
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C
122S

<400> 368
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val Arg His Glu Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95

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

<210> 369
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V

<400> 369

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 370
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/V41R/H99Q/C122S/Y151L/R217V

<400> 370
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 371
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/V41R/L97bR/C122S/Y151L/R217V

<400> 371

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 372
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 372

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Glu Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
```

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

<210> 373
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35V/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 373

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Val Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 374
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35V/R37aE/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/
Y149R

<400> 374
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val Arg His Glu Gly Gly Ser Val Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 375
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

R35V/R37aE/V38E/Y40Q/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/
Y149R

<400> 375
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val Arg His Glu Gly Gly Ser Glu Thr Gln Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 376
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V

<400> 376
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
85 90 95

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

<210> 377
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/H99Q/C122S/Y151L/R217V

<400> 377

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 378
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/C122S/Y151L/R217V

<400> 378
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 379
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/H99Q/C122S/R217V

<400> 379

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 380
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V

<400> 380

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
```

```
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 381
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza H99Q/C122S/Y151L/R217V

<400> 381

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 382
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V41R/H99Q/C122S/Y151L/R217V

<400> 382
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 383
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza L97bR/H99Q/C122S/Y151L

<400> 383
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30

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

<210> 384
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza L97bR/C122S/Y151L/R217V

```
<400> 384
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 385
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza R37aS/V41R/L97bG/H99Q/C122S/R217V

<400> 385

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Val Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 386
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza R37aS/V41R/L97bG/C122S/R217V

<400> 386
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Val Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 387
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40H/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/R217T

<400> 387
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr His Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 388
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40H/V41Q/L97bG/C122S/R217T

<400> 388

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr His Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
```

Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 389
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40H/V41Q/L97bG/H99Q/C122S

<400> 389
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr His Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 390
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40H/V41T/L97bG/H99Q/C122S/R217T

<400> 390
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr His Thr Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 391
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40H/V41T/L97bG/C122S/R217T

<400> 391
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr His Thr Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala His His Asn
85 90 95

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

<210> 392
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza Y40H/V41T/L97bG/H99Q/C122S

<400> 392

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr His Thr Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 393
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V41R/L97bG/H99Q/C122S

<400> 393
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 394
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V41Q/L97bG/H99Q/C122S

<400> 394

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 395
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V41T/L97bG/H99Q/C122S

<400> 395

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr Tyr Thr Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
```

```
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 396
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza T39Y/V41R/L97bA/C122S

<400> 396

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 397
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza T39Y/V41R/Y60bQ/L97bA/C122S

<400> 397
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 398
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S

<400> 398
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Tyr Tyr Arg Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 399
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza T39Y/V41R/L97bG/H99Q/C122S

```
<400> 399
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
```

145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 400
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza T39H/V41R/L97bG/H99Q/C122S

<400> 400
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val His Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 401

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza T39W/V41R/L97bG/H99Q/C122S

<400> 401
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Trp Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 402
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza T39Y/V41R/Y60bQ/L97bG/H99Q/C122S

<400> 402
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 403
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza T39Y/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S

<400> 403

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 404
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza T39Y/V41R/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S

<400> 404

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 405
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41S/A96_T97adelinsERG/A98_H99del/C122S/E175A

<400> 405
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Ser Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Glu Arg Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ala Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 406
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41S/A96D/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/E175S

<400> 406
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Ser Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn

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

<210> 407
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41S/A96E/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/E175K

<400> 407
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Ser Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Glu Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Lys Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190

```
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 408
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41A/A96_T97adelinsERG/A98_H99del/C122S/E175N

<400> 408

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Ala Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Glu Arg Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asn Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 409
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41T/A96E/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/E175K/R
217H

<400> 409
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Thr Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Glu Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Lys Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly His Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 410
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35K/V38D/T39S/Y40F/V41M/D60aN/A96D/D97L/A98K/T97a
del/H99L/L97bdel/C122S/Y151L

<400> 410
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Lys Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Ser Phe Met Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asn Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 411
<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96E/D97G/T97adelinsSG/A98_H99del/C122S

<400> 411

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Glu Gly Ser Gly Leu His Asn Asp
                85                  90                  95
Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro
            100                 105                 110
Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro
        115                 120                 125
Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser
    130                 135                 140
Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu
145                 150                 155                 160
Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val
                165                 170                 175
```

```
Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser
            180                 185                 190
Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg
        195                 200                 205
Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys
    210                 215                 220
Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile
225                 230                 235                 240
Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 412
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bG/H99P/C122S/R217V/K224Q

<400> 412

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Pro His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Gln Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 413
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/A96G/D97R/A98G/T97adel/H99I/L97bdel/C122S

<400> 413
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Gly Arg Gly Ile His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 414
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/A96E/D97E/T97aG/A98_H99del/L97bM/C122S

<400> 414
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 415
<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96D/D97G/T97aN/A98G/L97bdel/H99L/C122S/
R217F

<400> 415

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Asn Gly Leu His Asn Asp
                85                  90                  95
Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro
            100                 105                 110
Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro
        115                 120                 125
Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser
    130                 135                 140
Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu
145                 150                 155                 160
Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val
                165                 170                 175
```

```
Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser
            180                 185                 190
Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg
        195                 200                 205
Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Phe Gly Cys Ala Leu Lys
    210                 215                 220
Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile
225                 230                 235                 240
Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 416
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/A96E/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/R217H

<400> 416

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Glu Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly His Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 417
<211> 251
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122
S/R217D

<400> 417
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 418
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41K/A96D/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/R217K/K
224N

<400> 418
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 419
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/V41M/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/R217D

<400> 419

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Met Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
```

```
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 420
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41H/A96D/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/R217del
insF

<400> 420

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr His Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Phe Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 421
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/D97E/T97aG/A98_H99del/C122S/E175G/R217H

<400> 421
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Gly Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly His Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 422
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza A32S/V38D/H99E/C122S/K224A

<400> 422
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ser Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30

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

<210> 423
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bA/H99Q/C122S

<400> 423
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 424
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/L97bR/H99E/C122S/R217D/K224R

<400> 424

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 425

<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/A96N/D97G/T97aI/A98G/L97bdel/H99L/C122S

<400> 425
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asn Gly Ile Gly Leu His Asn Asp
85 90 95
Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro
100 105 110
Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro
115 120 125
Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser
130 135 140
Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu
145 150 155 160
Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val
165 170 175
Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser
180 185 190
Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg
195 200 205
Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys
210 215 220
Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile
225 230 235 240
Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 426
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/V38D/V41T/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S

<400> 426
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Thr Cys Gly
20 25 30

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

<210> 427
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41K/A96K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122
S

<400> 427
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Lys Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140

```
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 428
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/V41S/A96E/D97R/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/K224R

<400> 428

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Ser Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Glu Arg Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 429
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122
S/Y151L/Q192D/R217D

<400> 429
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Asp Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 430
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122
S/Y151M/Q192E/R217D

<400> 430

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Met Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 431
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122
S/Y151K/Q192E/R217D

<400> 431

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
```

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

<210> 432
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/V41R/A96D/D97G/T97adel/A98G/L97bdel/H99L
/C122S/Y151F/Q192D/R217D

<400> 432

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Phe Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Asp Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
```

Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 433
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122
S/Y151W/Q192M/R217D

<400> 433
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Trp Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Met Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 434
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

R37aH/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bde
l/C122S/Y151L/Q192G/R217D

<400> 434
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 435
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/Y40P/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Q192L/R217D

<400> 435
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Pro Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 436
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122
S/Y151L/Q192E/R217D

<400> 436

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
```

```
Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 437
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151N/Q192M/R217D

<400> 437

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Asn Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Met Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 438
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40F/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151L/Q192D/R217D

<400> 438
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Asp Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 439
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40H/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151K/Q192V/R217D

<400> 439
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 440
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40L/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151R/Q192L/R217D

<400> 440

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Arg Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
```

```
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Leu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 441
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40V/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151F/Q192F/R217D

<400> 441

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Val Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Phe Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Phe Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 442
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151K/Q192E/R217D

<400> 442
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Lys Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 443
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40L/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151K/Q192E/R217D

<400> 443
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15

```
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Lys Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 444
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40F/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151M/Q192D/R217D

<400> 444

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
```

```
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Met Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Asp Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 445
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40L/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151L/Q192T/R217D

<400> 445

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1                5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
```

Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 446
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R36H/V38D/Y40F/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel /C122S/Y151L/Q192E/R217D

<400> 446
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 447
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R36H/V38D/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/Y151L/Q192G/R217D

<400> 447
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 448
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40I/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Q192A/R217D

<400> 448
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Ile Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95

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

<210> 449
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122
S/Y151K/Q192E/R217D

<400> 449

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Lys Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
```

Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 450
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40L/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151L/Q192D/R217D

<400> 450
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Asp Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 451
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40L/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151M/Q192T/R217D

<400> 451
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Met Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 452
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40L/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151L/Q192R/R217D

<400> 452
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 453
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40F/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151R/Q192E/R217D

<400> 453
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Arg Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175

```
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 454
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40L/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151N/Q192V/R217D

<400> 454

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Asn Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Val Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 455
<211> 251

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40L/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151N/Q192D/R217D

<400> 455
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Asn Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Asp Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 456
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122
S/Y151K/Q192E/R217D

<400> 456
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30

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

<210> 457
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40F/V41R/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151K/Q192E/R217D

<400> 457

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
```

```
Asp Tyr Leu Lys Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 458
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40I/V41A/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/Y151M/Q192L/R217D

<400> 458

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Ile Ala Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Met Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Leu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 459
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/Y40H/V41M/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/R217D

<400> 459
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Met Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 460
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38D/V41K/D97E/T97adel/A98G/L97bdel/H99L
/C122S/R217D

<400> 460

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 461
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R36H/V38D/V41K/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/V213A/R217D

<400> 461

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
```

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

<210> 462
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/V41M/F59I/D97E/T97adel/A98G/L97bdel/H99L
/C122S/R217D

<400> 462

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Met Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Ile
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
                85                  90                  95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            100                 105                 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        115                 120                 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    130                 135                 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
```

Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 463
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/V41M/A55S/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/R217D

<400> 463
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Met Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ser Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 464
<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

R36H/V38D/V41R/A96D/D97G/T97aN/A98G/L97bdel/H99L/C
122S/G193R/R217F

<400> 464
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Asn Gly Leu His Asn Asp
85 90 95
Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro
100 105 110
Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro
115 120 125
Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser
130 135 140
Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu
145 150 155 160
Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val
165 170 175
Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser
180 185 190
Cys Gln Arg Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg
195 200 205
Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Phe Gly Cys Ala Leu Lys
210 215 220
Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile
225 230 235 240
Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 465
<211> 252
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/V41R/A96D/D97G/T97aN/A98G/L97bdel/H99L/C
122S/Q192R/R217F

<400> 465
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 466
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/G37cD/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L
97bdel/C122S/M157T/R217D

<400> 466
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Asp Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Thr Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190

Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 467
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122
S/Q192R/R217D

<400> 467
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Arg Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 468
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F21S/R36H/V38D/V41R/A96D/D97G/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/E175D/R217D

<400> 468
Ile Ile Gly Gly Glu Ser Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Gly Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp Val Thr
165 170 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
180 185 190
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
195 200 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
210 215 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225 230 235 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 469
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/V41R/A96D/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel/C122S/T178S/R217D

<400> 469
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 470
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/V41R/A96D/D97E/A98G/T97adel/H99L/L97bdel
/C122S/G193R/R217D

<400> 470
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Glu Gly Leu His Asn Asp Ile
85 90 95
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
100 105 110
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
115 120 125
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
130 135 140
Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
145 150 155 160

```
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                165                 170                 175
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            180                 185                 190
Gln Arg Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        195                 200                 205
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    210                 215                 220
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
225                 230                 235                 240
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 471
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157E

<400> 471

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Glu Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 472

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151F/M157K/Q192W

<400> 472
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Phe Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Trp Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 473
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41A/L97bA/H99Q/C122S/M157R

<400> 473
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Ala Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 474
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151R/M157K

<400> 474

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Arg Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 475
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157F

<400> 475

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Phe Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 476

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41N/L97bA/H99Q/C122S

<400> 476
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Asn Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 477
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30S/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K

<400> 477
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Ser Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 478
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157R

<400> 478

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Arg Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 479
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151M/M157Y/Q192A

<400> 479

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Met Pro Glu Gln Leu Lys Tyr Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Ala Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 480
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157T/Q
192L

<400> 480
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Thr Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Leu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 481
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157S

<400> 481
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Ser Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 482
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41K/L97bA/H99Q/C122S/Y151R/M157R

<400> 482

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Tyr Leu Arg Pro Glu Gln Leu Lys Arg Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 483
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40M/V41R/L97bA/H99Q/C122S

<400> 483

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Met Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 484
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K

<400> 484
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 485
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S

<400> 485
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 486
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/A96G/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K

<400> 486

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Gly Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 487
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/G37bD/V38D/T39H/V41R/L97bA/H99Q/R110dH/C122S/
Y151L/M157K/S240I

<400> 487

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Asp Gly Ser Asp His Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly His Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ile His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 488
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/Y151L/M157K/
R239H

<400> 488
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Asn Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile His Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 489
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/A32E/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 489
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala

```
 1               5                  10                  15
Glu Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 490
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R37aH/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/R110dH/C122S/
M157K/V160I

<400> 490

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly His Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 491
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/A32E/Y34N/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 491

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Glu Ile Asn Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
```

225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 492
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R37aH/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 492
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 493
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 493
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 494
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/T56A/L97bA/H99Q/C122S/M15
7K

<400> 494
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Ala His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln

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

<210> 495
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158A

<400> 495

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Ala Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 496
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38E/Y40H/V41R/T56A/L97bA/H99Q/C122S/M157K/K2
43M

<400> 496
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Ala His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Met Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 497
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

F30Y/Y34N/V38D/Y40H/V41R/Y94F/S95R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T242I

<400> 497

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Asn Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Phe Arg Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Ile Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 498
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 498

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

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

<210> 499
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35H/V38D/T39S/Y40H/V41R/S75P/L97bA/H99Q/C122
S/M157K/I163M/Q204H/K243E

<400> 499

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Ser His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Pro Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Met Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
```

Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu His Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Glu Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 500
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35H/V38D/T39S/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/T14
7S/M157K

<400> 500
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Ser Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Ser Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 501
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36S/V38H/Y40L/V41R/N76K/L97bA/H99Q/C122S/M15
7K

<400> 501
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser His Thr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Lys Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 502
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L73Q/L97bA/H99Q/E110bD/C122S/Y149N/
Y151L/M157K

<400> 502
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 503
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R36L/V38E/V41R/K82R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K

<400> 503

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Leu His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Arg Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 504
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35H/V38D/V41R/K61E/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/R206H

<400> 504

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Glu Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
His Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 505
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I17V/F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K

<400> 505
Ile Val Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 506
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35S/V38E/V41R/Y60bH/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K

<400> 506
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Arg Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp His Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 507
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R36H/V38D/V41R/T56A/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M1
57K

<400> 507

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Ala His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
```

```
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 508
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35Q/H37T/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149I/Y1
51L/M157K/R217D

<400> 508

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Ile Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
```

245 250

<210> 509
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35Q/H37W/V38D/V41R/D60aE/Y60bS/L97bA/H99Q/C1
22S/Y149L/Y151L/M157K

<400> 509
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Trp Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Leu Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 510
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35Q/H37Q/V38D/V41R/A96D/L97bA/H99Q/C122S/Y14
9L/Y151L/M157K/R217D

<400> 510
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Gln Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Asp Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Leu Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 511
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35H/H37I/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/Y1
51L/M157K/R217S

<400> 511
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg Ile Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln

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

<210> 512
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35T/H37M/V38D/V41R/D60aS/Y60bT/L97bA/H99Q/A1
12V/C122S/Y151L/M157K/R217T

<400> 512

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Thr Arg Met Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Ser Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Val Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
```

```
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 513
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35Q/H37W/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M1
57K

<400> 513

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Trp Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 514
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)

miền proteaza
F30H/R35L/H37D/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M1
57K/R217E

<400> 514
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Leu Arg Asp Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 515
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35Q/H37T/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M1
57K

<400> 515
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn

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

<210> 516
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35Q/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K

<400> 516
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190

```
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 517
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35Q/H37W/V38D/V41R/D60aE/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49L/Y151L/M157K/R217D

<400> 517

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Trp Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Glu Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Leu Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 518
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35Q/V38D/V41R/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/Y
151L/M157K

<400> 518
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Asn Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 519
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/M1
57K/R217D

<400> 519
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 520
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/H37W/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C12
2S/Y149H/M157K

<400> 520

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Trp Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp His Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 521
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y14
9I/M157K

<400> 521

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Ile Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 522
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149H/M157K

<400> 522
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp His Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 523
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 523
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 524
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/T56A/L97bV/H99Q/R116S/C12
2S/M157K/T210N

<400> 524

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Ala His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Ser Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
```

```
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Asn Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 525
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/E153D/M1
57K

<400> 525

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Asp Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
```

245 250

<210> 526
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/D148N/M157K/T188S

<400> 526
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asn Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Ser Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 527
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/K223N/P236S

<400> 527
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Asn Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Ser Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 528
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40M/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R/Q
192M

<400> 528
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Met Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln

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

<210> 529
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157L/Q192H

<400> 529

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Leu Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 530
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157S/Q192L

<400> 530
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Ser Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Leu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 531
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30N/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157S/Q

192H

<400> 531
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Asn Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Ser Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 532
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/Y40H/V41Q/L97bA/H99Q/C122S/Q192H

<400> 532
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95

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

<210> 533
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Q/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151H/M157R/Q
192Y

<400> 533

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Gln Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu His Pro Glu Gln Leu Lys Arg Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Tyr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 534
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157Y

<400> 534
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Tyr Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 535
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)

miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157T

<400> 535
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Thr Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 536
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aL/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157S

<400> 536
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Leu Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn

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

<210> 537
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30N/V38D/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R

<400> 537

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Asn Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Arg Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 538
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40F/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R

<400> 538
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Arg Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 539
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)

miền proteaza
F30H/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R/Q
192H

<400> 539
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Arg Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 540
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T2
10S

<400> 540
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn

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

<210> 541
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K

<400> 541
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190

Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 542
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
N26D/F30Y/V38D/Y40H/V41R/I65T/L97bA/H99Q/C122S/M12
6I/M157K

<400> 542
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asp Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Thr Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Ile Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 543
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/Q
192H

<400> 543
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 544
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40L/V41Q/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R/Q
192Y

<400> 544
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 545
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157A/Q
192Y

<400> 545
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Ala Thr Val Val Lys
145 150 155 160

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Tyr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 546
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36S/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 546

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 547

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41Q/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157R

<400> 547
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Arg Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 548
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151F/M157K

<400> 548
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 549
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R37aH/V38D/Y40H/V41R/K61E/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 549

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Glu Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
```

```
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 550
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99L/C122S/F141L/M157K/T158A

<400> 550

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Leu Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Ala Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 551
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/I138V/M157K

<400> 551
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Val Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 552
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
T22I/F30Y/R35S/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/I138V/M157K

<400> 552
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Ile Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala

```
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Val Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 553
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36S/V38D/T39I/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/S14
6P/M157K/T158S

<400> 553

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Ile His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 554
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/Y34S/R37aH/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49F/M157K

<400> 554

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Ser Arg Arg His His Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Phe Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
```

225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 555
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 555
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Leu Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 556
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/S37dP/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 556
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Pro Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 557
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T1
58A

<400> 557
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Leu Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln

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

<210> 558
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R37aS/V38D/Y40H/V41R/E86D/L97bA/H99Q/C122S/M157K/F234Y

<400> 558

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Asp Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
```

```
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Tyr Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 559
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R37aH/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/S
174P

<400> 559

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Pro Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 560
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)

miền proteaza
F30Y/R37aS/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 560
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 561
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/V38D/Y40H/V41R/N76S/L97bA/H99Q/C122S/M15
7K/K187E

<400> 561
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Leu Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Ser Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 562
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35H/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/T158S

<400> 562

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Ser Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
```

Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 563
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R37aS/V38D/Y40H/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M157K/K
187Q/T208S

<400> 563
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Gln Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Ser Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 564
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157K/Q192H/
R239H

<400> 564
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile His Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 565
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35Q/H37Y/V38D/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H99Q/C1
22S/Y149R/Y151L/M157K

<400> 565
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 566
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35T/H37Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 566
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Thr Arg Gln Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 567
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35T/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bQ/L97bA/H99Q/C1
22S/Y149R/M157K/R217K

<400> 567

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Thr Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Glu Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Lys Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 568
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35K/H37E/V38D/Y40H/V41R/D60aP/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/M157K

<400> 568
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Lys Arg Glu Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Asn Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 569
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/H37D/V38D/Y40H/V41R/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 569
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15

Ala Ile Tyr Leu Arg Asp Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 570
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35H/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K/R217K

<400> 570
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125

```
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Lys Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 571
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35S/H37G/V38D/Y40H/V41R/D60aP/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 571

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ser Arg Gly Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
```

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 572
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149N/M157K

<400> 572
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Asn Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 573
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/R35T/H37A/V38D/Y40H/V41R/D60aP/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K/R217Y

<400> 573
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Thr Arg Ala Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Tyr Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 574
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49R/M157K/R217E

<400> 574
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95

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

<210> 575
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/R37aD/V38D/Y40L/V41R/L97bA/H99Q/C122S/M126K/M157K

<400> 575

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Asp Gly Gly Ser Asp Thr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Lys Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

```
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 576
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35T/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aP/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y149T/M157K

<400> 576

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Thr Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Thr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 577
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35H/H37D/V38D/Y40H/V41R/D60aK/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 577
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg Asp Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Lys Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 578
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35S/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 578
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 579
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/R35H/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aR/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 579

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr His Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Arg Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
```

```
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 580
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bK/L97bA/H99Q/C1
22S/Y149R/M157K/R217I

<400> 580

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Glu Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ile Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 581
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aP/Y60bE/L97bA/H99Q/C1
22S/Y149R/M157K/R217K

<400> 581
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Lys Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 582
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bN/L97bA/H99Q/C1
22S/Y149R/M157K

<400> 582
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30

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

<210> 583
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35T/H37T/V38D/Y40H/V41R/D60aT/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 583

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Thr Arg Thr Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Thr Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 584
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49N/L150V/M157K

<400> 584

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Asn Val Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 585
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/Y60bN/N87D/A96T/T97aI/L97
bA/H99Q/C122S/N145S/M157K/M207K

<400> 585
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asp
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Thr Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Ser
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Lys Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 586
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/S1
46F/M157K/Q192H/K243Q

<400> 586

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Phe Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Gln Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 587
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/K61E/T97aI/L97bA/H99Q/C12
2S/Y149H/M157K/K187R

<400> 587

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Glu Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
```

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

<210> 588
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R37aP/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/E84D/L97bA/H99Q/C1
22S/M157K/T242I

<400> 588

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Pro Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Asp Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Ile Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 589
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R37aP/G37bD/V38D/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C
122S/M157K

<400> 589
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Pro Asp Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 590
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

F30Y/R35L/R36H/H37P/V38E/Y40H/V41R/Y60bG/T97aD/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 590
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Leu His Pro Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gly Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Asp Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 591
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37S/V38E/T39L/Y40H/V41R/Y60bH/T97aI/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 591
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Leu His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp His Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 592
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bA/T97a
D/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 592

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Leu His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Asp Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
```

Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 593
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37P/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/L97bA/H99
Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 593
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His Pro Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 594
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37E/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aV/L97
bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 594
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Val Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 595
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37G/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bA/T97aE/L97
bA/H99Q/C122S/Y149Q/M157K

<400> 595
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His Gly Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 596
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bD/T97aD/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 596
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Asp Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160

Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 597
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37F/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bD/T97aV/L97
bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K

<400> 597
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His Phe Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Val Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 598
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37N/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aV/L97
bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K

<400> 598
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His Asn Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Val Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 599
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/R36H/H37E/V38E/T39L/Y40H/V41R/Y60bS/T97a
D/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 599
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15

```
Ala Ile Tyr Leu His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Leu His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Asp Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 600
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bV/T97aE/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 600

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Val Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
```

```
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 601
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37A/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bQ/T97aV/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 601

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His Ala Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Val Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
```

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 602
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bM/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 602
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Met Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Asp Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 603
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30Y/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bN/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 603
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Val Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 604
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bS/T97a
L/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K

<400> 604
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Leu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95

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

<210> 605
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/V38E/T39V/Y40H/V41R/Y60bH/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149S/M157K

<400> 605

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Val His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp His Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Ser Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 606
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37E/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bN/T97aV/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 606
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Phe His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Val Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 607
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37G/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aA/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 607

Ile	Ile	Gly	Gly	Glu	Phe	Thr	Thr	Ile	Glu	Asn	Gln	Pro	Trp	Tyr	Ala
1				5				10						15	
Ala	Ile	Tyr	Arg	His	Gly	Arg	Gly	Gly	Ser	Glu	Tyr	His	Arg	Cys	Gly
			20					25					30		
Gly	Ser	Leu	Ile	Ser	Pro	Cys	Trp	Val	Ile	Ser	Ala	Thr	His	Cys	Phe
		35					40					45			
Ile	Asp	Asn	Pro	Lys	Lys	Glu	Asp	Tyr	Ile	Val	Tyr	Leu	Gly	Arg	Ser
	50					55					60				
Arg	Leu	Asn	Ser	Asn	Thr	Gln	Gly	Glu	Met	Lys	Phe	Glu	Val	Glu	Asn
65					70					75					80
Leu	Ile	Leu	His	Lys	Asp	Tyr	Ser	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Gln	His	Asn
				85					90					95	
Asp	Ile	Ala	Leu	Leu	Lys	Ile	Arg	Ser	Lys	Glu	Gly	Arg	Cys	Ala	Gln
			100					105					110		
Pro	Ser	Arg	Thr	Ile	Gln	Thr	Ile	Ser	Leu	Pro	Ser	Met	Tyr	Asn	Asp
		115					120					125			
Pro	Gln	Phe	Gly	Thr	Ser	Cys	Glu	Ile	Thr	Gly	Phe	Gly	Lys	Glu	Asn
	130					135					140				
Ser	Thr	Asp	Arg	Leu	Tyr	Pro	Glu	Gln	Leu	Lys	Lys	Thr	Val	Val	Lys
145					150					155					160
Leu	Ile	Ser	His	Arg	Glu	Cys	Gln	Gln	Pro	His	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Glu
				165					170					175	
Val	Thr	Thr	Lys	Met	Leu	Cys	Ala	Ala	Asp	Pro	Gln	Trp	Lys	Thr	Asp
			180					185					190		
Ser	Cys	Gln	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Val	Cys	Ser	Leu	Gln	Gly
		195					200					205			
Arg	Met	Thr	Leu	Thr	Gly	Ile	Val	Ser	Trp	Gly	Arg	Gly	Cys	Ala	Leu
	210					215					220				
Lys	Asp	Lys	Pro	Gly	Val	Tyr	Thr	Arg	Val	Ser	His	Phe	Leu	Pro	Trp
225					230					235					240
Ile	Arg	Ser	His	Thr	Lys	Glu	Glu	Asn	Gly	Leu	Ala	Leu			
				245					250						

<210> 608
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35I/R36H/H37E/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bS/T97a
V/L97bA/H99Q/C122S/Y149L/M157K

<400> 608

Ile	Ile	Gly	Gly	Glu	Phe	Thr	Thr	Ile	Glu	Asn	Gln	Pro	Trp	Tyr	Ala
1				5				10						15	
Ala	Ile	Tyr	Ile	His	Glu	Arg	Gly	Gly	Ser	Glu	Tyr	His	Arg	Cys	Gly
			20					25					30		
Gly	Ser	Leu	Ile	Ser	Pro	Cys	Trp	Val	Ile	Ser	Ala	Thr	His	Cys	Phe
		35					40					45			
Ile	Asp	Ser	Pro	Lys	Lys	Glu	Asp	Tyr	Ile	Val	Tyr	Leu	Gly	Arg	Ser
	50					55					60				

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

<210> 609
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/H37D/V38D/Y40H/V41R/D60aE/Y60bT/L97bA/H9
9Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 609

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Leu Arg Asp Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Glu Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
```

Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 610
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/V38D/Y40H/V41R/D60aK/Y60bV/L97bA/H99Q/C1
22S/Y149R/M157K

<400> 610
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Lys Val Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 611
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 611
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 612
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37Q/V38E/T39H/Y40H/V41R/T97aE/L97b
A/H99Q/C122S/Y149L/M157K

<400> 612
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Gln Arg Gly Gly Ser Glu His His Arg Cys Gly
20 25 30

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

<210> 613
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bD/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/M157K

<400> 613

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 614
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35V/R36H/H37G/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bW/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149E/M157K

<400> 614

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Val His Gly Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Trp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Glu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 615
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35M/R36H/H37G/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bP/T97a
F/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 615
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Met His Gly Arg Gly Gly Ser Glu Phe His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Phe Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 616
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35V/R36H/H37G/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bA/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 616

Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val His Gly Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 617
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35V/R36H/H37S/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bS/T97a
M/L97bA/H99Q/C122S/Y149W/M157K

<400> 617
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Phe His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Met Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110

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

<210> 618
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bT/T97a
D/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 618

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Asp Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 619
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/R36H/H37G/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bP/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149M/M157K

<400> 619
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Leu His Gly Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Met Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 620
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

F30Y/R35F/R36H/H37G/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bS/T97a
D/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 620
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Phe His Gly Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Asp Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 621
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35V/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bP/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149E/M157K

<400> 621
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 622
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35V/R36H/H37S/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bS/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192T

<400> 622

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Val His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Phe His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
```

Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 623
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35V/R36H/H37K/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bN/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 623
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val His Lys Arg Gly Gly Ser Glu Phe His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 624
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35V/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bP/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 624
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 625
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35V/R36H/H37G/V38E/T39L/Y40H/V41R/Y60bT/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192T/R239H

<400> 625
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val His Gly Arg Gly Gly Ser Glu Leu His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 626
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39L/Y40H/V41W/Y60bE/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192F

<400> 626

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Leu His Trp Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Phe Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 627
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39F/Y40H/V41R/Y60bE/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 627

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Phe His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 628
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bA/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 628
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 629
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bD/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192M

<400> 629
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15

```
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Met Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 630
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39V/Y40H/V41W/Y60bS/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H

<400> 630

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Val His Trp Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
```

```
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 631
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39A/Y40H/V41W/Y60bV/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H

<400> 631

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Ala His Trp Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Val Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
```

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 632
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37P/V38E/T39R/Y40H/V41W/Y60bE/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/M157K/Q192F

<400> 632
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Pro Arg Gly Gly Ser Glu Arg His Trp Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Phe Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 633
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bE/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 633
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 634
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39V/Y40H/V41W/Y60bA/T97a
I/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192A

<400> 634
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Val His Trp Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95

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

<210> 635
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37D/V38D/T39H/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49R/Q192T

<400> 635

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Asp Arg Gly Gly Ser Asp His Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 636
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35F/H37G/V38D/T39H/V41A/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49R

<400> 636
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Phe Arg Gly Arg Gly Gly Ser Asp His Tyr Ala Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 637
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35E/H37D/V38D/T39N/V41R/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49R

<400> 637
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Glu Arg Asp Arg Gly Gly Ser Asp Asn Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 638
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/V38D/T39A/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49R/Q192S

<400> 638
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Arg Gly Gly Ser Asp Ala Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 639
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/V38D/T39F/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49R/Q192G

<400> 639

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Arg Gly Gly Ser Asp Phe Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
```

```
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gly Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 640
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35F/H37E/V38D/T39S/V41A/Y60bD/L97bA/H99Q/C122S

<400> 640

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Phe Arg Glu Arg Gly Gly Ser Asp Ser Tyr Ala Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 641
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35D/H37R/V38D/T39V/V41T/Y60bT/L97bA/H99Q/C122S/Q192A

<400> 641
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Asp Arg Arg Arg Gly Gly Ser Asp Val Tyr Thr Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Ala Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 642
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37G/V38D/T39W/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Q192G

<400> 642
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Gly Arg Gly Gly Ser Asp Trp Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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


<210> 643
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
      miền proteaza
      R35Q/H37M/V38D/T39V/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S/Y1
      49R

<400> 643
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Met Arg Gly Gly Ser Asp Val Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
```

145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 644
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35L/H37E/V38D/T39Y/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 644
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Leu Arg Glu Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 645
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/H37D/V38D/T39Y/V41R/Y60bS/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49R

<400> 645
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Asp Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 646
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35G/H37G/V38D/T39W/V41A/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S

<400> 646
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gly Arg Gly Arg Gly Gly Ser Asp Trp Tyr Ala Cys Gly

```
          20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 647
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37N/V38D/T39Y/V41R/Y60bP/L97bA/H99Q/C122S

<400> 647

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Asn Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 648
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/H37D/V38D/T39Y/V41R/Y60bH/L97bA/H99Q/C122S/Y1
49R

<400> 648
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Asp Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp His Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 649
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37G/V38E/T39H/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192M

<400> 649
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Gly Arg Gly Gly Ser Glu His Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Met Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 650
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35V/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40M/V41R/T97aI/L97bA/H99
Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 650

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Val His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Trp Met Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 651
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192N

<400> 651

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Leu His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
```

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

<210> 652
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/R36H/H37E/V38E/T39L/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192H

<400> 652

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Leu His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Leu Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 653
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35Q/R36H/H37Y/V38E/T39Y/Y40L/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 653
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Tyr Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 654
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

F30Y/R36H/V38E/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192Y

<400> 654
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Tyr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 655
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30L/R35L/R36H/H37D/V38E/T39Y/V41K/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 655
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Leu Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Leu His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 656
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/R36H/H37Y/V38E/T39Y/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99
Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 656
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Tyr Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190

Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 657
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/R36H/H37E/V38E/T39N/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 657
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Leu His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Asn Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 658
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35I/R36H/H37D/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 658
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ile His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 659
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39S/Y40L/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q192A

<400> 659
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Ser Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 660
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35E/R36H/H37D/V38E/T39W/Y40F/V41R/T97aI/L97bA/H99
Q/C122S/Y149R/M157K/Q192T

<400> 660

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Glu His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Trp Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 661
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35L/R36H/H37E/V38E/T39F/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 661
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Leu His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 662
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35L/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41Q/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 662
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Leu His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 663
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37D/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bS/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 663
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15

Ala Ile Tyr Trp His Asp Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 664
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/S37dP/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60b
Q/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 664
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Pro Glu Trp His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125

```
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 665
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I24T/F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40H/V41R/Y60bQ
/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 665

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Thr Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Trp His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
```

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 666
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
I24N/F30Y/R35W/R36H/H37E/V38E/T39W/Y40L/V41R/Y60bQ
/N87D/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K/M157K

<400> 666
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Asn Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Trp Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asp
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 667
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/Y40H/Y60bN/T97aE/L97bA/H9
9Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 667
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 668
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/H37Y/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 668
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Tyr Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95

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

<210> 669
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aI/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 669

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp Arg Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

```
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 670
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 670

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 671
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Y/R36H/H37S/V38D/T39Y/V41R/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 671
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Ser Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 672
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/H37S/V38E/T39W/V41R/Y60bN/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 672
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Trp Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 673
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 673

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
```

```
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 674
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/Y40H/Y60bN/T97aI/L97bA/H9
9Q/C122S/Y149R

<400> 674

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 675
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/R36N/H37S/V38E/T39Y/Y40M/V41R/Y60bN/T97aE/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/M157S

<400> 675
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Asn Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Met Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Ser Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 676
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/R36Q/H37S/V38T/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97aE/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151P/M157R

<400> 676
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Gln Ser Arg Gly Gly Ser Thr Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30

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

<210> 677
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36Q/H37S/V38P/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157R

<400> 677

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp Gln Ser Arg Gly Gly Ser Pro Tyr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Arg Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 678
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/R36Q/H37S/V38P/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L

<400> 678

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp Gln Ser Arg Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 679
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35W/R36T/H37S/V38P/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S

<400> 679
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Thr Ser Arg Gly Gly Ser Pro Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Ser Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 680
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36Q/H37S/V38E/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157T/Q192H

<400> 680

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp Gln Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Thr Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 681
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36K/H37S/V38D/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157R/Q192T

<400> 681

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp Lys Ser Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
```

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

<210> 682
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/R36K/H37S/V38E/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S/Q192H

<400> 682

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp Lys Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Ser Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 683
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36S/H37S/V38Q/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S/Q192N

<400> 683
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Ser Ser Arg Gly Gly Ser Gln Tyr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Ser Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Asn Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 684
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

F30Y/R35W/R36Q/H37S/V38T/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157K/Q192T

<400> 684
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Gln Ser Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 685
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/R36K/H37S/V38A/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H9
9Q/C122S/Y149R/Y151L/M157R/Q192T

<400> 685
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Lys Ser Arg Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 686
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40H/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151P/M157K/Q192H

<400> 686

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr His Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Pro Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
```

Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 687
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/R36Q/H37S/V38E/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97aE/L97
bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S/Q192T

<400> 687
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Gln Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Ser Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 688
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/R36Q/H37S/V38S/T39Y/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157S/Q192H

<400> 688
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Gln Ser Arg Gly Gly Ser Ser Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Ser Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 689
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40M/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 689
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Met Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 690
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36T/H37S/V38S/T39Y/Y40L/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/Y151L/M157R/Q192Y

<400> 690
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Thr Ser Arg Gly Gly Ser Ser Tyr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Arg Thr Val Val Lys
145 150 155 160

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Tyr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 691
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35L/R36H/H37E/V38E/T39S/Y40F/V41R/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 691

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Leu His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Ser Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 692
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35V/R36H/H37T/V38E/T39A/Y40L/V41Q/T97aI/L97b
A/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 692
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val His Thr Arg Gly Gly Ser Glu Ala Leu Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 693
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35K/R36H/H37E/R37aK/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60a
P/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 693
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15

```
Ala Ile Tyr Lys His Glu Lys Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 694
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60a
P/Y60bG/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 694

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln His Gly Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gly Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
```

```
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 695
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39I/Y40F/V41R/D60a
P/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149M/M157K

<400> 695

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln His Gly Glu Gly Gly Ser Glu Ile Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Met Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
```

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 696
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35H/R36H/H37D/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60a
P/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 696
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His His Asp Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 697
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37M/R37aD/V38E/T39A/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L97bA/
H99Q/C122S/Y149R

<400> 697
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Met Asp Gly Gly Ser Glu Ala Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 698
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35F/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aE/Y60bD/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 698
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Phe Arg Asp Ser Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95

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

<210> 699
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35A/H37D/R37aN/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 699

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ala Arg Asp Asn Gly Gly Ser Glu Phe Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 700
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37D/R37aA/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 700
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Asp Ala Gly Gly Ser Glu Phe Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 701
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/H37D/R37aP/V38E/T39W/V41R/D60aR/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 701
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Asp Pro Gly Gly Ser Glu Trp Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Arg Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 702
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35F/H37D/R37aN/V38E/T39Y/V41R/Y60bS/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 702
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Phe Arg Asp Asn Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 703
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 703

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr Arg Ser Pro Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
```

Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 704
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aD/V38E/T39L/V41R/D60aE/Y60bT/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 704
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Asp Gly Gly Ser Glu Leu Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 705
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/H37P/R37aG/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 705
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Pro Gly Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 706
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
N26D/F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61E/
T97aI/L97bA/H99Q/R110dS/P114S/C122S/Y149R/M157K

<400> 706
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asp Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30

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

<210> 707
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37N/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61E/R72H/
T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/Q169K

<400> 707

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Asn Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Glu Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
His Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Lys Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 708
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37E/V38E/T39F/Y40F/V41R/K61E/T97aI
/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K/T242A

<400> 708

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Glu Arg Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Glu Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Ala Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 709
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60a
S/Y60bP/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 709
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Gly Glu Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Ser Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 710
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35M/R36H/H37D/R37aD/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60a
P/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 710

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Met His Asp Asp Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 711
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aN/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60b
A/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 711

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln His Gly Asn Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
```

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

<210> 712
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60a
P/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 712

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln His Gly Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 713
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37D/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60a
E/Y60bF/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 713
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Asp Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Phe Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 714
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

F30Y/R35Q/R36H/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60a
S/Y60bP/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 714
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Ser Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 715
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37Y/R37aD/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60b
V/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 715
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Tyr Asp Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Val Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 716
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35A/R36H/H37T/R37aD/V38E/T39Y/Y40L/V41R/D60a
P/Y60bE/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 716

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ala His Thr Asp Gly Gly Ser Glu Tyr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
```

```
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 717
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37S/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97a
E/L97bA/H99Q/C122S/N145S/S146V/T147M/D148G/Y149Q/L
150F/M157K

<400> 717

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp His Ser Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Ser
    130                 135                 140
Val Met Gly Gln Phe Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 718
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39F/Y40F/V41R/D60a
P/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 718
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Gly Glu Gly Gly Ser Glu Phe Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 719
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aL/V38E/T39N/Y40F/V41R/D60a
P/Y60bT/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 719
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Gly Leu Gly Gly Ser Glu Asn Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 720
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35E/R36H/H37D/R37aN/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60b
N/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 720

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Glu His Asp Asn Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
```

```
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 721
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37M/R37aD/V38E/T39G/Y40F/V41R/D60aP/Y60
bE/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 721

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His Met Asp Gly Gly Ser Glu Gly Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 722
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37E/R37aP/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60b
N/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149Q/M157K

<400> 722
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Glu Pro Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Gln Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 723
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37D/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60a
E/Y60bG/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 723
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala

```
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln His Asp Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Glu Gly Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 724
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Y/R36H/H37P/R37aQ/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60b
H/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 724

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr His Pro Gln Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp His Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 725
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35F/R36H/H37D/R37aD/V38E/T39H/Y40F/V41R/D60a
P/Y60bA/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 725

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Phe His Asp Asp Gly Gly Ser Glu His Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
```

225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 726
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60a
E/Y60bA/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 726
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 727
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37P/R37aD/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60a

E/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 727
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Pro Asp Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 728
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35Q/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60a
A/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 728
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln His Gly Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Ala Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn

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

<210> 729
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35M/R36H/H37G/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/D60a
P/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 729

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Met His Gly Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
```

```
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 730
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R36H/H37D/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 730

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg His Asp Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 731
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37P/R37aQ/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60b
Q/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 731
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Pro Gln Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Lys Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 732
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R35W/R36H/H37P/R37aE/V38E/T39Y/Y40F/V41R/Y60b
A/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R/M157K

<400> 732
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp His Pro Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 733
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aA/Y60bP/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 733

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Ala Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
```

```
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 734
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35L/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 734

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Leu Arg Asp Ser Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 735

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35M/H37G/R37aD/V38E/T39W/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 735
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Met Arg Gly Asp Gly Gly Ser Glu Trp Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 736
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37G/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 736
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Gly Pro Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly

```
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 737
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35A/H37G/R37aE/V38E/T39F/V41R/D60aE/Y60bP/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 737

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ala Arg Gly Glu Gly Gly Ser Glu Phe Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Glu Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
```

```
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 738
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37S/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 738

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Ser Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
```

245 250

<210> 739
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35Q/H37T/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aE/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 739
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Thr Pro Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 740
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35Q/H37G/R37aE/V38E/T39H/V41R/D60aP/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 740
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Gly Glu Gly Gly Ser Glu His Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 741
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/H37D/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aE/Y60bS/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 741
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Asp Ser Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Glu Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln

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

<210> 742
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37G/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bT/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 742

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Gly Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
```

```
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 743
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aG/Y60bS/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 743

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Gly Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 744
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)

miền proteaza
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bL/D97T/T97aE/L97bG/A98S/H99L/C122S

<400> 744
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Pro Asn Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Leu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Thr Glu Gly Ser Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 745
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41K/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192A

<400> 745
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Pro Asn Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn

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

<210> 746
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Y/H37V/R37aW/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T

<400> 746
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr Arg Val Trp Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp

```
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 747
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/H37P/R37aN/V38E/T39Y/V41K/D60aP/Y60bD/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T

<400> 747

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Trp Arg Pro Asn Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 748
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37T/R37aL/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/
H99Q/C122S/Y151L/Q192R

<400> 748
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Thr Leu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Arg Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 749
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y151L

<400> 749
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr Arg Ser Pro Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 750
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192H

<400> 750

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr Arg Ser Pro Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
```

```
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 751
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35A/H37E/R37aG/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y151L

<400> 751

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ala Arg Glu Gly Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 752
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35W/H37G/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192T

<400> 752
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Trp Arg Gly Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 753
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Y/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S

<400> 753
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala

```
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Tyr Arg Ser Pro Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 754
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35A/H37T/R37aD/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y151L/Q192S

<400> 754

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ala Arg Thr Asp Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 755
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217A/K224S

<400> 755

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ala Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Ser Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
```

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 756
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99E/C122S/Y172F/E175D/R217E

<400> 756
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Phe Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 757
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99Q/C122S/E175D/R217E/K224R

<400> 757

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 758
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217A/K224Q

<400> 758

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 759
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99L/C122S/E175D/R217E/K224S

<400> 759

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Ser Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
```

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 760
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217E/K224R

<400> 760
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 761
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217S/K224S

<400> 761

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Ser Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 762
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99V/C122S/E175D/R217E/K224N

<400> 762

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Val His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 763
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bV/H99L/C122S/E175D/K224S

<400> 763

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Ser Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
```

245 250

<210> 764
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/H99L/C122S/E175D/R217E

<400> 764
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 765
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bG/H99Q/C122S/E175D/R217K/K224A

<400> 765
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15

```
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Lys Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Ala Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 766
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/K224A

<400> 766

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Ala Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 767
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/H99E/C122S/E175D/K224S

<400> 767
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Ser Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 768
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bV/H99E/C122S/K224S

<400> 768
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Ser Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 769
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bK/H99L/C122S/R217E

<400> 769
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 770
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99L/C122S/E175D/R217T/K224S

<400> 770

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
```

```
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Ser Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 771
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bV/H99L/C122S/K224A

<400> 771

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Ala Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 772
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99V/C122S/E175D/R217E/K224S

<400> 772
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Val His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Ser Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 773
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bG/H99Q/C122S/R217Q

<400> 773
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 774
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/L97bA/H99Q/C122S/Y151L/M157T/Q192H

<400> 774
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Thr Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp

```
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 775
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41K/L97bA/H99Q/C122S/Y151K/M157R/Q
192E

<400> 775

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Lys Pro Glu Gln Leu Lys Arg Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 776
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41K/L97bA/H99Q/C122S/Y151K/M157S/Q192E

<400> 776
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Lys Pro Glu Gln Leu Lys Ser Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Glu Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 777
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/V38D/Y40H/V41K/L97bA/H99Q/C122S/Y151K/Q192E

<400> 777
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 778
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30M/V38D/Y40F/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151G/Q192T

<400> 778

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Met Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Gly Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
```

```
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 779
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30H/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151M/M157R/Q192T

<400> 779

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Met Pro Glu Gln Leu Lys Arg Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 780
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza F30H/V38D/Y40P/V41K/L97bA/H99Q/C122S/Y151H/M157E/Q192A

<400> 780
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp His Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Pro Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu His Pro Glu Gln Leu Lys Glu Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Ala Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 781
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R37aH/V38E/T39S/D60aR/Y60bG/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149T/Y151S

<400> 781
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Glu Ser Tyr Val Cys Gly
20 25 30

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

<210> 782
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aH/V38E/T39A/V41R/D60aG/Y60bG/T97aI/L97bA/H99Q/
C122S/Y149V/Y151F/Q192R

<400> 782

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Glu Ala Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Gly Gly Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Val Leu Phe Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Arg Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 783
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aH/V38E/T39H/V41R/D60aT/Y60bT/T97aI/L97bA/H99Q/
C122S/Y149M/Y151N/Q192T

<400> 783

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Glu His Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Thr Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Met Leu Asn Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 784
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aH/V38E/T39G/V41A/D60aG/Y60bE/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149R/Y151K/Q192T

<400> 784
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Glu Gly Tyr Ala Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Gly Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Lys Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 785
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39D/V41A/D60aA/Y60bR/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/
Y149W/Y151K/Q192T

<400> 785

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Asp Tyr Ala Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Ala Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Trp Leu Lys Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 786
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39A/V41R/D60aH/Y60bH/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/
Y149M/Y151N/Q192T

<400> 786

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Ala Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile His His Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
```

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

<210> 787
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39F/V41R/Y60bN/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149A/
Y151G/Q192T

<400> 787

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Phe Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Ala Leu Gly Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 788
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39D/V41A/D60aS/Y60bR/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/
Y149W/Y151K/Q192T

<400> 788
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Asp Tyr Ala Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Ser Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Trp Leu Lys Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 789
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

R37aH/V38E/V41A/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149A
/Y151M/Q192T

<400> 789
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Ala Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Ala Leu Met Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 790
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aH/V38E/T39S/V41A/D60aG/Y60bE/T97aE/L97bA/H99Q/
C122S/Y149S/Y151H

<400> 790
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Glu Ser Tyr Ala Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Gly Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 791
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aP/V38E/T39G/V41R/Y60bR/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/
Y149T/Y151P/Q192T

<400> 791

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Pro Gly Gly Ser Glu Gly Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Thr Leu Pro Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
```

Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 792
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aQ/Y60bP/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 792
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Pro Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Gln Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 793
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35N/H37S/R37aE/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 793
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Asn Arg Ser Glu Gly Gly Ser Glu Phe Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 794
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35H/H37P/R37aG/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 794
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg Pro Gly Gly Gly Ser Glu Phe Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 795
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35Q/H37G/R37aD/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bA/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 795

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Gly Asp Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 796
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35L/H37D/R37aN/V38E/T39Y/V41R/D60aP/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 796

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Leu Arg Asp Asn Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 797
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35N/H37T/R37aY/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 797
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Asn Arg Thr Tyr Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 798
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37D/R37aK/V38E/T39F/V41R/D60aP/Y60bS/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 798
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15

```
Ala Ile Tyr Gln Arg Asp Lys Gly Gly Ser Glu Phe Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 799
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aS/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 799

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Ser Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
```

```
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 800
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aN/Y60bN/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 800

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Pro Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asn Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
```

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 801
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35Q/H37S/R37aP/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 801
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Ser Pro Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 802
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35Y/H37D/V38E/T39W/V41R/D60aP/Y60bE/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 802
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Tyr Arg Asp Arg Gly Gly Ser Glu Trp Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 803
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39W/V41T/Y60bK/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149I/
Y151G/Q192T

<400> 803
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Trp Tyr Thr Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95

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

<210> 804
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39W/V41T/D60aP/Y60bQ/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/
Y149V/Y151G/Q192T

<400> 804

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Trp Tyr Thr Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Val Leu Gly Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

```
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 805
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39W/V41T/D60aP/Y60bW/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/
Y149L/Y151G/Q192T

<400> 805

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Trp Tyr Thr Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Trp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Leu Leu Gly Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 806
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39W/V41Q/Y60bE/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149I/
Y151G/Q192T

<400> 806
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Trp Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Ile Leu Gly Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 807
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39L/V41R/D60aP/Y60bD/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/
Y149V/Y151L/Q192T

<400> 807
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Leu Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 808
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/H99M/C122S/E175D/R217E

<400> 808
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Met His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190

Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 809
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99M/C122S/E175D/R217E/K224R

<400> 809
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Met His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 810
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/C122S/E175D/R217E/K224R

<400> 810
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 811
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99L/C122S/E175D/R217E/K224R

<400> 811
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 812
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bT/H99L/C122S/E175D/R217K

<400> 812

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Thr Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

```
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Lys Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 813
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bR/H99L/C122S/E175D/K224A

<400> 813

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Ala Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 814
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bM/H99S/C122S/K224S

<400> 814
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Met Ala Ser His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Ser Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 815
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bK/H99L/C122S/E175D/K224A

<400> 815
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Lys Ala Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110

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

<210> 816
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/L97bR/H99V/C122S/E175D/R217E/K224R

<400> 816

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Val His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
```

225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 817
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/L97bT/H99E/C122S/E175D/K224S

<400> 817
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Thr Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Ser Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 818
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D
/Q192T/R217E/K224R

<400> 818
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 819
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/D60aK/Y60bD/T97aA/L97bR/H99E/C122S/Y151L
/E175D/Q192Y/R217E/K224R

<400> 819
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Lys Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ala Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln

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

<210> 820
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/D60aP/Y60bS/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L
/E175D/Q192Y/R217E/K224R

<400> 820

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Tyr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
```

```
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 821
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C122S/E175D/R217E
/K224R

<400> 821

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 822
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)

miền proteaza
V38D/V41R/Y60bS/T97aI/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D
/Q192F/R217E/K224R

<400> 822
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Phe Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 823
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41L/Y60bP/T97aM/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D
/R217E/K224R

<400> 823
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn

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

<210> 824
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/D60aH/Y60bS/T97aW/L97bR/H99E/C122S/Y151L
/E175D/R217E/K224R

<400> 824
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile His Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 825
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41K/D60aN/Y60bN/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D
/Q192H/R217E/K224R

<400> 825

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asn Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys His Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 826
<211> 253
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D
/Q192T/R217E/K224R

<400> 826
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 827
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217Q

<400> 827
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 828
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/Q192S/R217A

<400> 828
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu

```
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Ser Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ala Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 829
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38D/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217T

<400> 829

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 830
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217A

<400> 830
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ala Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 831
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217E

<400> 831
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 832
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/V38D/V41R/T97aS/L97bA/H99Q/C122S/Y151L

<400> 832
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu

```
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 833
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217T

<400> 833

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 834
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/V38D/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151L

<400> 834
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 835
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/V38D/V41R/L97bA/H99Q/C122S/Y151L

<400> 835
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 836
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/V38D/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217Q

<400> 836
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu

```
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 837
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/Q192S/R217A

<400> 837

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Ser Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ala Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 838
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/V38D/Y40Q/V41R/Y60bS/L97bG/H99Q/C122S

<400> 838
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Gln Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 839
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35K/V38D/Y40H/V41R/Y60bS/L97bG/H99Q/C122S

<400> 839
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Lys Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 840
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/V38D/Y40L/V41L/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S

<400> 840

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Leu Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
```

```
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 841
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/V38D/Y40H/V41L/Y60bD/L97bG/H99Q/C122S

<400> 841

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 842
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/Y60bN/T97aL/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D
/Q192T/R217E/K224R

<400> 842
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Leu Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 843
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/Y60bR/T97aF/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/E175D
/Q192H/R217E/K224R

<400> 843
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30

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

<210> 844
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/D60aP/Y60bD/T97aP/L97bR/H99Q/C122S/Y151L
/E175D/Q192R/R217E/K224R

<400> 844

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Pro Arg Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
```

```
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Arg Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 845
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/Y60bP/T97aW/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/E175D
/Q192K/R217E/K224R

<400> 845

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Arg Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 846
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38D/V41R/Y60bT/T97aD/L97bR/H99Q/C122S/Y151L
/E175D/Q192A/R217E/K224R

<400> 846
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Asp Arg Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Ala Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 847
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41K/D60aE/Y60bP/T97aA/L97bR/H99L/C122S/Y151L
/E175D/Q192R/R217E/K224R

<400> 847

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Glu Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ala Arg Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Arg Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 848
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38D/V41R/D60aS/Y60bP/L97bR/H99Q/C122S/Y151L
/E175D/Q192R/R217E/K224R

<400> 848

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Ser Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
```

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

<210> 849
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/Y60bR/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T
/R217E/K224R

<400> 849

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 850
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/D60aP/Y60bD/T97aW/L97bR/H99Q/C122S/Y151L
/E175D/Q192A/R217E/K224R

<400> 850
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Arg Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Ala Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 851
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

V38D/V41Q/D60aN/Y60bP/L97bR/H99L/C122S/Y151L/E175D
/Q192R/R217E/K224R

<400> 851
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asn Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Arg Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 852
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/D60aN/Y60bP/T97aN/L97bR/H99I/C122S/Y151L
/E175D/Q192R/R217E/K224R

<400> 852
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asn Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 853
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41Q/Y60bP/T97aY/L97bR/H99L/C122S/Y151L/E175D
/Q192K/R217E/K224R

<400> 853

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Tyr Arg Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
```

Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 854
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/Y60bR/L97bR/H99L/C122S/Y151L/E175D/Q192T
/R217E/K224R

<400> 854
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 855
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/Y60bR/L97bR/H99L/C122S/Y151L/E175D/Q192Y
/R217E/K224R

<400> 855
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Tyr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 856
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza V38D/V41R/L97bT/C122S/Y151F/R217E

<400> 856
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 857
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41K/L97bA/H99L/C122S/Y151R/R217E

<400> 857
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Arg Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 858
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/L97bN/H99E/C122S/E175D/Q192M/R217E

<400> 858

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Asn Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Met Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 859
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/T97aR/L97bG/H99Q/C122S/E175F

<400> 859
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Arg Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Phe
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 860
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/V38D/V41L/D60aP/Y60bW/L97bG/H99Q/C122S

<400> 860
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Trp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 861
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/D60aQ/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S

<400> 861

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Gln Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 862
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/V38D/Y40H/V41L/Y60bD/L97bG/H99Q/C122S

<400> 862

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 863
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38D/V41R/D60aT/Y60bN/L97bG/H99Q/C122S

<400> 863
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Thr Asn Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 864
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35K/V38D/Y40H/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S

<400> 864
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Lys Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr His Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 865
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/V38D/Y40M/V41R/Y60bA/L97bG/H99Q/C122S

<400> 865
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Met Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ala Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 866
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35K/V38D/Y40F/V41R/Y60bT/L97bG/H99Q/C122S

<400> 866

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Lys Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 867
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/V38D/Y40F/V41T/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S

<400> 867
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Phe Thr Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 868
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39W/Y40L/V41R/T97aL/L97bA/H99Q/C122S

<400> 868
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Trp Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 869
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39F/Y40L/V41R/T97aW/L97bA/H99Q/C122S

<400> 869

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Phe Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 870
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39Y/Y40Q/V41L/T97aY/L97bA/H99Q/C122S

<400> 870

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Tyr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 871
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38D/T39Y/Y40M/V41R/T97aL/L97bA/H99Q/C122S

<400> 871
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Tyr Met Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Leu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 872
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aV/L97bA/H99Q/C122S

<400> 872
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Leu Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 873
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S

<400> 873

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Leu Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 874
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39L/Y40L/V41R/T97aW/L97bA/H99Q/C122S

<400> 874

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Leu Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 875
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39Y/Y40H/V41R/T97aI/L97bA/H99Q/C122S

<400> 875
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Tyr His Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 876
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39Y/Y40L/V41R/T97aW/L97bA/H99Q/C122S

<400> 876
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 877
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza V38D/T39Y/Y40M/V41R/T97aW/L97bA/H99Q/C122S

<400> 877

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Met Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 878
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39Y/Y40L/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S

<400> 878

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 879
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39Y/Y40M/V41R/T97aE/L97bA/H99Q/C122S

<400> 879
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Met Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 880
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/V38D/V41T/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217E

<400> 880
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Thr Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 881
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217E

<400> 881
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 882
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/L97bR/H99E/C122S/Y151L/R217E

<400> 882

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 883
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35H/V38D/V41Q/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V

<400> 883
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 884
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/R217V

<400> 884
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 885
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38D/V41R/L97bR/H99Q/C122S/Y151L/Q192T/R217V

<400> 885

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 886
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39Y/Y40L/V41K/L97bR/H99L/C122S/E175D

<400> 886

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Leu Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 887
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37G/R37aN/V38F/T39H/V41Q/Y60bR/T97aL/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 887
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Gly Asn Gly Gly Ser Phe His Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Leu Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 888
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37N/R37aD/V38Y/T39F/V41Q/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 888
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Asn Asp Gly Gly Ser Tyr Phe Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45

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

<210> 889
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37A/R37aE/V38F/T39L/V41Q/Y60bR/T97aF/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 889
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Ala Glu Gly Gly Ser Phe Leu Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Phe Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 890
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35K/H37G/R37aE/G37bS/V38F/T39H/V41Q/Y60bR/T97aW/L
97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 890

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Lys Arg Gly Glu Ser Gly Ser Phe His Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 891
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37A/R37aE/V38F/T39L/V41Q/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 891
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Ala Glu Gly Gly Ser Phe Leu Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 892
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37N/R37aE/V38F/T39L/V41Q/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 892
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15

```
Ala Ile Tyr Arg Arg Asn Glu Gly Gly Ser Phe Leu Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 893
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35G/H37T/R37aE/V38T/T39Y/V41Q/Y60bR/T97aF/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 893

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gly Arg Thr Glu Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Phe Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
```

```
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 894
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35K/H37S/R37aE/V38F/T39Y/V41Q/Y60bR/T97aL/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 894

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Lys Arg Ser Glu Gly Gly Ser Phe Tyr Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Leu Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
```

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 895
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37A/R37aE/V38Y/T39Y/V41Q/Y60bR/T97aV/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 895
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Ala Glu Gly Gly Ser Tyr Tyr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Val Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 896
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37D/R37aD/V38Y/T39Y/V41Q/Y60bR/T97aL/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 896
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Asp Asp Gly Gly Ser Tyr Tyr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Leu Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 897
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37A/R37aD/V38Y/T39Y/V41Q/Y60bR/T97aD/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 897
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Ala Asp Gly Gly Ser Tyr Tyr Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Asp Arg Ala Glu His Asn
85 90 95

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

<210> 898
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37S/R37aD/V38H/T39L/V41Q/Y60bR/T97aW/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 898

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg Ser Asp Gly Gly Ser His Leu Tyr Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Trp Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
```

Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 899
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/V38Y/T39H/V41Q/Y60bR/T97aD/L97bR/H99E/C
122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 899
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg Gly Asp Gly Gly Ser Tyr His Tyr Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Arg Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Asp Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 900
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
H37G/R37aD/G37bD/V38F/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/
H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 900

Ile	Ile	Gly	Gly	Glu	Phe	Thr	Thr	Ile	Glu	Asn	Gln	Pro	Trp	Phe	Ala
1				5				10						15	
Ala	Ile	Tyr	Arg	Arg	Gly	Asp	Asp	Gly	Ser	Phe	His	Tyr	Arg	Cys	Gly
			20					25					30		
Gly	Ser	Leu	Ile	Ser	Pro	Cys	Trp	Val	Ile	Ser	Ala	Thr	His	Cys	Phe
		35					40					45			
Ile	Asp	Lys	Pro	Lys	Lys	Glu	Asp	Tyr	Ile	Val	Tyr	Leu	Gly	Arg	Ser
	50					55					60				
Arg	Leu	Asn	Ser	Asn	Thr	Gln	Gly	Glu	Met	Lys	Phe	Glu	Val	Glu	Asn
65					70					75					80
Leu	Ile	Leu	His	Lys	Asp	Tyr	Ser	Ala	Asp	Ser	Arg	Ala	Glu	His	Asn
				85					90					95	
Asp	Ile	Ala	Leu	Leu	Lys	Ile	Arg	Ser	Lys	Glu	Gly	Arg	Cys	Ala	Gln
			100					105					110		
Pro	Ser	Arg	Thr	Ile	Gln	Thr	Ile	Ser	Leu	Pro	Ser	Met	Tyr	Asn	Asp
		115					120					125			
Pro	Gln	Phe	Gly	Thr	Ser	Cys	Glu	Ile	Thr	Gly	Phe	Gly	Lys	Glu	Asn
	130					135					140				
Ser	Thr	Asp	Tyr	Leu	Leu	Pro	Glu	Gln	Leu	Lys	Met	Thr	Val	Val	Lys
145					150					155					160
Leu	Ile	Ser	His	Arg	Glu	Cys	Gln	Gln	Pro	His	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Asp
				165					170					175	
Val	Thr	Thr	Lys	Met	Leu	Cys	Ala	Ala	Asp	Pro	Gln	Trp	Lys	Thr	Asp
			180					185					190		
Ser	Cys	Thr	Gly	Asp	Ser	Gly	Gly	Pro	Leu	Val	Cys	Ser	Leu	Gln	Gly
		195					200					205			
Arg	Met	Thr	Leu	Thr	Gly	Ile	Val	Ser	Trp	Gly	Glu	Gly	Cys	Ala	Leu
	210					215					220				
Lys	Asp	Arg	Pro	Gly	Val	Tyr	Thr	Arg	Val	Ser	His	Phe	Leu	Pro	Trp
225					230					235					240
Ile	Arg	Ser	His	Thr	Lys	Glu	Glu	Asn	Gly	Leu	Ala	Leu			
				245					250						

<210> 901
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37G/R37aE/V38Y/T39H/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H
99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 901

Ile	Ile	Gly	Gly	Glu	Phe	Thr	Thr	Ile	Glu	Asn	Gln	Pro	Trp	Phe	Ala
1				5				10						15	
Ala	Ile	Tyr	Gln	Arg	Gly	Glu	Gly	Gly	Ser	Tyr	His	Tyr	Arg	Cys	Gly
			20					25					30		
Gly	Ser	Leu	Ile	Ser	Pro	Cys	Trp	Val	Ile	Ser	Ala	Thr	His	Cys	Phe
		35					40					45			
Ile	Asp	Lys	Pro	Lys	Lys	Glu	Asp	Tyr	Ile	Val	Tyr	Leu	Gly	Arg	Ser
	50					55					60				

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

<210> 902
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35K/H37A/R37aE/V38H/T39Y/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 902

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Lys Arg Ala Glu Gly Gly Ser His Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
```

```
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 903
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35Q/H37G/R37aE/V38Y/T39F/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 903

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Gly Glu Gly Gly Ser Tyr Phe Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 904
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37G/R37aE/V38W/T39Y/V41R/Y60bK/T97aS/L97bR/H99E/C122S/Y151L/E175D/Q192T/R217E/K224R

<400> 904
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Gln Arg Gly Glu Gly Gly Ser Trp Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ser Arg Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Asp
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Thr Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Arg Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 905
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36L/V38D/T39R/Y40L/V41T/L97bD/H99P/C122S/R217S

<400> 905
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Leu His Arg Gly Gly Ser Asp Arg Leu Thr Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 906
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39V/V41R/L97bV/H99E/C122S/R217E

<400> 906

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Val Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 907
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aH/V38D/T39M/Y40A/V41K/L97bR/H99Q/C122S/R217E

<400> 907

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Asp Met Ala Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 908

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/T39H/Y40L/V41R/L97bV/H99V/C122S/R217Q

<400> 908
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp His Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Val His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 909
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/T39K/Y40F/V41R/L97bN/H99E/C122S/R217S

<400> 909
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Lys Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 910
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39K/Y40F/V41Q/L97bI/H99S/C122S/R217T

<400> 910

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Lys Phe Gln Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ile Ala Ser His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 911
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36H/V38D/T39R/Y40F/V41R/H99S/C122S/R217T

<400> 911
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg His His Arg Gly Gly Ser Asp Arg Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Ser His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 912

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aP/V38D/T39Y/V41R/L97bV/H99Q/C122S/R217T

<400> 912
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Pro Gly Gly Ser Asp Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 913
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/T39K/Y40M/V41K/L97bI/C122S/R217E

<400> 913
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Lys Met Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 914
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39H/Y40F/V41K/L97bM/H99T/C122S/R217E

<400> 914

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp His Phe Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Met Ala Thr His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 915
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/T39K/Y40M/V41K/L97bH/H99T/C122S/R217S

<400> 915

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Lys Met Lys Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr His Ala Thr His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 916

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39L/Y40L/V41K/L97bH/H99L/C122S/R217A

<400> 916
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Leu Leu Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr His Ala Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ala Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 917
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39F/Y40L/V41K/L97bT/H99S/C122S/R217T

<400> 917
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Phe Leu Lys Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 918
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/T39A/V41R/L97bV/H99S/C122S/R217T

<400> 918

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Ala Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Val Ala Ser His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 919
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aH/V38D/T39R/Y40F/L97bT/C122S/R217E

<400> 919
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Asp Arg Phe Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Thr Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 920

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/T39K/Y40F/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217S

<400> 920
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Lys Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ile Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 921
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/T39A/Y40F/V41R/L97bA/H99E/C122S/R217T

<400> 921
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Ala Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 922
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/L97bG/H99S/C122S

<400> 922

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Ser His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 923
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38D/T39L/Y40L/V41R/L97bM/H99L/C122S/R217S

<400> 923

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Leu Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Met Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 924

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/T39L/Y40L/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217T

<400> 924
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Leu Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ile Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 925
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38D/T39Y/Y40F/V41R/H99L/C122S/R217T

<400> 925
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Tyr Phe Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 926
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39Y/Y40L/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217E

<400> 926

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Tyr Leu Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ile Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 927
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aP/V38D/T39L/Y40I/V41R/H99L/C122S/R217Q

<400> 927

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Pro Gly Gly Ser Asp Leu Ile Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 928

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38D/T39V/Y40L/V41S/H99V/C122S/R217V

<400> 928
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Asp Val Leu Ser Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Val His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 929
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38D/T39V/V41E/L97bG/H99Q/C122S/R217T

<400> 929
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Val Tyr Glu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe

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

<210> 930
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38D/T39S/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217T

<400> 930

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Asp Ser Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ile Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 931
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38D/T39G/V41R/L97bM/H99E/C122S/R217S

<400> 931

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Gly Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Met Ala Glu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 932

<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38D/T39Y/V41R/L97bI/H99E/C122S/R217T

<400> 932
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Asp Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ile Ala Glu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 933
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35E/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bN/L97bA/H99Q/C122S/Y
149R

<400> 933
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Glu Arg His Asp Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30

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

<210> 934
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 934

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Asp Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
```

145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 935
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35V/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bG/T97aE/L97bA/H99Q/C
122S/Y149R

<400> 935
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val Arg His Asp Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Gly Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 936
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bV/T97aL/L97bA/H99Q/C122S/Y149L

<400> 936
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Asp Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Val Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Leu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Leu Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 937
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aP/V38E/Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 937
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15

```
Ala Ile Tyr Arg Arg His Pro Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 938
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35M/R37aQ/V38E/Y40Q/V41L/Y60bE/T97aE/L97bA/H99Q/C
122S/Y149R

<400> 938

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Met Arg His Gln Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
```

```
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 939
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bT/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 939

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Asp Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Thr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
```

Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 940
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35S/R37aA/V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149V

<400> 940
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Ala Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Val Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 941
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35K/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bE/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 941
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Lys Arg His Asp Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Glu Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 942
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35V/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/Y60bS/T97aE/L97bA/H99Q/C
122S/Y149R

<400> 942
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Val Arg His Glu Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Ser Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln

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

<210> 943
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35A/R37aE/V38E/Y40Q/V41L/L97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 943

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ala Arg His Glu Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
```

Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 944
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bP/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/
Y149R

<400> 944
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Asp Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 945
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza

R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/T97aD/L97bA/H99Q/C122S/Y149K

<400> 945
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Asp Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Asp Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 946
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35A/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bV/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y149K

<400> 946
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ala Arg His Asp Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Val Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80

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

<210> 947
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aD/V38E/Y40Q/V41L/Y60bP/T97aV/L97bA/H99Q/C122S/
Y149K

<400> 947

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Asp Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Val Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Lys Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
```

Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 948
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/R37aD/V38E/Y40Q/V41L/T97aE/L97bA/H99Q/C122S/Y
149R

<400> 948
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Asp Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Glu Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 949
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38E/Y40V/V41R/H99L/C122S/Y151L/R217V

<400> 949
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Glu Thr Val Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 950
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/Y40L/V41R/H99L/C122S/Y151L/R217S

<400> 950
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Leu Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 951
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36L/V38E/Y40Q/V41R/L97bG/H99Q/C122S/Y151P/R217S

<400> 951

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Leu His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Pro Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 952
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38E/V41R/L97bG/H99Q/C122S/R217V

<400> 952

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 953
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/Y40A/V41L/L97bG/H99Q/C122S/R217T

<400> 953
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Ala Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 954
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/Y40H/V41Q/L97bG/H99Q/C122S/R217T

<400> 954
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Gln Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 955
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/Y40H/V41T/L97bG/H99Q/C122S/R217T

<400> 955
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr His Thr Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 956
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/Y40Q/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151P/R217T

<400> 956

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Pro Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 957
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/Y40Q/V41L/L97bG/H99Q/C122S/R217T

<400> 957
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 958
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38E/Y40Q/V41R/L97bG/H99L/C122S/Y151P/R217E

<400> 958
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Gln Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 959
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/Y40P/V41L/L97bG/H99L/C122S/Y151Q/R217E

<400> 959

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Pro Leu Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Leu His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Gln Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 960
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38E/Y40H/V41T/L97bG/H99Q/C122S/R217T

<400> 960

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Glu Thr His Thr Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 961
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38E/Y40P/V41L/L97bG/H99Q/C122S/Y151Q/R217T

<400> 961
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Glu Thr Pro Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Gln Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 962
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aS/V38E/Y40Q/V41L/L97bG/C122S/Y151P/R217T

<400> 962
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Ser Gly Gly Ser Glu Thr Gln Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 963
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R36S/V38E/Y40L/V41N/L97bG/H99Q/C122S/Y151L/R217T

<400> 963

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Ser His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Leu Asn Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 964
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/V38E/L97bR/C122S/Y151L/R217V/H241N

<400> 964

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser Asn Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 965
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35S/V38E/H99Q/C122S/S146F/Y151L/V159L/K179N/Q192R
/R217V/T242S

<400> 965
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Ser Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Phe Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Leu Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Asn Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Arg Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Ser Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 966
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
F30Y/R37aH/V38E/H99Q/C122S/Y151L/R217V

<400> 966
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser

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

<210> 967
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza R35H/V38E/L97bR/C122S/Y151L/R217V

<400> 967

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala His His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
```

```
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 968
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T56I/H99Q/C122S/Y151L/S190G/R217V

<400> 968

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Val Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Ile His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Gly Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 969
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza F30Y/V38E/L97bR/C122S/Y151L/R217V

<400> 969
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Tyr Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Thr Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala His His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Leu Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 970
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39S/V41L/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S

<400> 970
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Ser Tyr Leu Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn

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

<210> 971
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39R/D60aP/Y60bD/L97bG/H99Q/C122S

<400> 971
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Arg Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190

Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 972
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39W/V41R/D60aP/Y60bD/L97bA/H99L/C122S

<400> 972
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Trp Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Asp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 973
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39Y/V41R/D60aW/Y60bP/L97bR/H99I/C122S

<400> 973
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Trp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Arg Ala Ile His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 974
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39H/D60aP/Y60bK/L97bG/H99Q/C122S

<400> 974
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu His Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Lys Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn

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

<210> 975
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39L/V41R/D60aN/Y60bP/L97bG/H99Q/C122S

<400> 975
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Leu Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Asn Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190

Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 976
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39H/D60aP/Y60bW/L97bG/H99Q/C122S

<400> 976
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu His Tyr Val Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Trp Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 977
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
V38E/T39W/V41R/D60aW/Y60bP/L97bG/H99L/C122S

<400> 977
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Trp Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Trp Pro Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Gly Ala Leu His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 978
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/I
138V/E167K

<400> 978
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60

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

<210> 979
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T
158S/E167K

<400> 979
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Ser Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Lys Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175

```
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 980
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA) miền proteaza R35H/G37bD/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T158S

<400> 980

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Asp Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Ser Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 981
<211> 253

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S/T
158A

<400> 981
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Ala Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 982
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35H/V38E/T39Y/V41R/T56A/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C1
22S

<400> 982
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30

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

<210> 983
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35H/V38E/T39Y/V41R/T56S/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C1
22S/T158S

<400> 983
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Ser His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140

```
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Ser Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 984
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aH/V38E/T39Y/V41R/T56A/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C
122S/T158A

<400> 984

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Ala His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Ala Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 985
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R37aH/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/L97bA/H99Q/C122S

<400> 985
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
1 5 10 15
Ala Ile Tyr Arg Arg His His Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
20 25 30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
35 40 45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
50 55 60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65 70 75 80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
85 90 95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
100 105 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
115 120 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
130 135 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
165 170 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
180 185 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
195 200 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
210 215 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225 230 235 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
245 250

<210> 986
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35H/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/P60cS/L97bA/H99Q/C122S/I138V/E167K

<400> 986
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala

```
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr His Arg His Arg Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Ser Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
        115                 120                 125
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Val Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
    130                 135                 140
Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
145                 150                 155                 160
Leu Ile Ser His Arg Lys Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
            180                 185                 190
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
        195                 200                 205
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
    210                 215                 220
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
225                 230                 235                 240
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
                245                 250
```

<210> 987
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
miền proteaza
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/C122C/H99Q/Y149R

<400> 987

```
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
 1               5                  10                  15
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
        35                  40                  45
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
    50                  55                  60
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
65                  70                  75                  80
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
            100                 105                 110
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
```

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

<210> 988
<211> 6418
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> pE5 plasmit

<400> 988

```
gatctcgatc ccgcgaaatt aatacgactc actatagggg aattgtgagc ggataacaat 60
tcccctctag taataatttt gtttaacttt aagaaggagg tctagaatgg gtcatcatca 120
ccatcatcat ggtagcctgc aggatagcga agttaatcaa gaagcaaaac cggaagttaa 180
gccggaagtg aaacctgaaa cacatattaa cctgaaagtg agtgatggca gcagcgaaat 240
cttcttcaaa atcaaaaaaa ccacaccgct gcgtcgtctg atggaagcat ttgcaaaacg 300
tcagggtaaa gaaatggata gcctgcgttt tctgtatgat ggtattcgta ttcaggcaga 360
tcaggcaccg gaagatctgg atatggaaga taacgatatt atcgaagcac atcgtgagca 420
gattggtggt gttgttggtg gcaccgatgc agatgaaggt gaatggccgt ggcaggttag 480
cctgcatgca ttaggtcatg gtcatagctg tggtgcaagc ctgattagcc cgaattggct 540
ggttagcgca gcacattgtt atattgatac ccgtggtagc cgttggagcg atccgacaca 600
gtggaccgca tttctgggtc tgcatgatca gagccagcgt agcgcaccgg gtgttcaaga 660
acgtcgcctg aaacgtatta ttagccatcc gtttttttaat aaaggtgtgc cgctggatta 720
tgatattgca ctgctggaac tggaaaaacc ggcagaatat agcagcatgg ttcgtccgat 780
ttgtctgccg gatgcaagcc atgtttttcc ggcaggtaaa gcaatttggg ttaccggttg 840
gggtcatacc cagtatggtg gtacacatgc actgatcctg cagaaaggtg aaattcgtgt 900
tattaatcag accacgtgtg aaaatctgct gccgcagctg attacaccgc gtatgatgtg 960
tgttggtttt ctgagcggtg gtgtggatag ctgtgatggc gatagcggtg gtccgctgag 1020
cagcgttgaa gcagatggtc gtatttttca ggcaggcgtt gttagctggg gtgatggttg 1080
tgcacagcgt aataaaccgg gtgtgtatac ccgtctgccg ctgtttcgtg attggattaa 1140
agaaaatacc ggtgtgtaat aactcgagca ccaccaccac caccactgag atccggctgc 1200
taacaaagcc cgaaaggaag ctgagttggc tgctgccacc gctgagcaat aactagcata 1260
acccccttggg gcctctaaac gggtcttgag gggtttttg ctgaaaggag gaactatatc 1320
cggattggcg aatgggacgc gccctgtagc ggcgcattaa gcgcggcggg tgtggtggtt 1380
acgcgcagcg tgaccgctac acttgccagc gccctagcgc ccgctccttt cgctttcttc 1440
ccttcctttc tcgccacgtt cgccggcttt ccccgtcaag ctctaaatcg ggggctccct 1500
ttagggttcc gatttagtgc tttacggcac ctcgacccca aaaaacttga ttagggtgat 1560
ggttcacgta gtgggccatc gccctgatag acggtttttc gccctttgac gttggagtcc 1620
acgttcttta atagtggact cttgttccaa actggaacaa cactcaaccc tatctcggtc 1680
tattcttttg atttataagg gattttgccg atttcggcct attggttaaa aaatgagctg 1740
atttaacaaa aatttaacgc gaattttaac aaaatattaa cgcttacaat ttaggtggca 1800
cttttcgggg aaatgtgcgc ggaaccccta tttgtttatt tttctaaata cattcaaata 1860
tgtatccgct catgagacaa taaccctgat aaatgcttca ataatattga aaaaggaaga 1920
```

gtatgagtat tcaacatttc cgtgtcgccc ttattccctt ttttgcggca ttttgccttc 1980
ctgtttttgc tcacccagaa acgctggtga aagtaaaaga tgctgaagat cagttgggtg 2040
cacgagtggg ttacatcgaa ctggatctca acagcggtaa gatccttgag agttttcgcc 2100
ccgaagaacg ttttccaatg atgagcactt ttaaagttct gctatgtggc gcggtattat 2160
cccgtattga cgccgggcaa gagcaactcg gtcgccgcat acactattct cagaatgact 2220
tggttgagta ctcaccagtc acagaaaagc atcttacgga tggcatgaca gtaagagaat 2280
tatgcagtgc tgccataacc atgagtgata acactgcggc caacttactt ctgacaacga 2340
tcggaggacc gaaggagcta accgcttttt tgcacaacat gggggatcat gtaactcgcc 2400
ttgatcgttg ggaaccggag ctgaatgaag ccataccaaa cgacgagcgt gacaccacga 2460
tgcctgcagc aatggcaaca acgttgcgca aactattaac tggcgaacta cttactctag 2520
cttcccggca acaattaata gactggatgg aggcggataa agttgcagga ccacttctgc 2580
gctcggccct tccggctggc tggtttattg ctgataaatc tggagccggt gagcgtgggt 2640
ctcgcggtat cattgcagca ctggggccag atggtaagcc ctcccgtatc gtagttatct 2700
acacgacggg gagtcaggca actatggatg aacgaaatag acagatcgct gagataggtg 2760
cctcactgat taagcattgg taactgtcag accaagttta ctcatatata ctttagattg 2820
atttaaaact tcatttttaa tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca 2880
tgaccaaaat cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga 2940
tcaaaggatc ttcttgagat cctttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaaa 3000
aaccaccgct accagcggtg gtttgtttgc cggatcaaga gctaccaact ctttttccga 3060
aggtaactgg cttcagcaga gcgcagatac caaatactgt ccttctagtg tagccgtagt 3120
taggccacca cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata cctcgctctg ctaatcctgt 3180
taccagtggc tgctgccagt ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat 3240
agttaccgga taaggcgcag cggtcgggct gaacgggggg ttcgtgcaca cagcccagct 3300
tggagcgaac gacctacacc gaactgagat acctacagcg tgagctatga gaaagcgcca 3360
cgcttcccga agggagaaag gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag 3420
agcgcacgag ggagcttcca gggggaaacg cctggtatct ttatagtcct gtcgggtttc 3480
gccacctctg acttgagcgt cgatttttgt gatgctcgtc aggggggcgg agcctatgga 3540
aaaacgccag caacgcggcc tttttacggt tcctggcctt ttgctggcct tttgctcaca 3600
tgttctttcc tgcgttatcc cctgattctg tggataaccg tattaccgcc tttgagtgag 3660
ctgataccgc tcgccgcagc cgaacgaccg agcgcagcga gtcagtgagc gaggaagcgg 3720
aagagcgcct gatgcggtat tttctcctta cgcatctgtg cggtatttca caccgcaatg 3780
gtgcactctc agtacaatct gctctgatgc cgcatagtta agccagtata cactccgcta 3840
tcgctacgtg actgggtcat ggctgcgccc cgacacccgc caacacccgc tgacgcgccc 3900
tgacgggctt gtctgctccc ggcatccgct tacagacaag ctgtgaccgt ctccgggagc 3960
tgcatgtgtc agaggttttc accgtcatca ccgaaacgcg cgaggcagct gcggtaaagc 4020
tcatcagcgt ggtcgtgaag cgattcacag atgtctgcct gttcatccgc gtccagctcg 4080
ttgagtttct ccagaagcgt taatgtctgg cttctgataa agcgggccat gttaagggcg 4140
gtttttttcct gtttggtcac tgatgcctcc gtgtaagggg gatttctgtt catgggggta 4200
atgataccga tgaaacgaga gaggatgctc acgatacggg ttactgatga tgaacatgcc 4260
cggttactgg aacgttgtga gggtaaacaa ctggcggtat ggatgcggcg ggaccagaga 4320
aaaatcactc agggtcaatg ccagcgcttc gttaatacag atgtaggtgt tccacagggt 4380
agccagcagc atcctgcgat gcagatccgg aacataatgg tgcagggcgc tgacttccgc 4440
gtttccagac tttacgaaac acggaaaccg aagaccattc atgttgttgc tcaggtcgca 4500
gacgttttgc agcagcagtc gcttcacgtt cgctcgcgta tcggtgattc attctgctaa 4560
ccagtaaggc aaccccgcca gcctagccgg gtcctcaacg acaggagcac gatcatgcgc 4620
acccgtgggg ccgccatgcc ggcgataatg gcctgcttct cgccgaaacg tttggtggcg 4680
ggaccagtga cgaaggcttg agcgagggcg tgcaagattc cgaataccgc aagcgacagg 4740
ccgatcatcg tcgcgctcca gcgaaagcgg tcctcgccga aaatgaccca gagcgctgcc 4800
ggcacctgtc ctacgagttg catgataaag aagacagtca taagtgcggc gacgatagtc 4860
atgccccgcg cccaccggaa ggagctgact gggttgaagg ctctcaaggg catcggtcga 4920
gatcccggtg cctaatgagt gagctaactt acattaattg cgttgcgctc actgcccgct 4980
ttccagtcgg gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga 5040
ggcggtttgc gtattgggcg ccagggtggt ttttcttttc accagtgaga cgggcaacag 5100
ctgattgccc ttcaccgcct ggccctgaga gagttgcagc aagcggtcca cgctggtttg 5160
ccccagcagg cgaaaatcct gtttgatggt ggttaacggc gggatataac atgagctgtc 5220
ttcggtatcg tcgtatccca ctaccgagat atccgcacca acgcgcagcc cggactcggt 5280
aatggcgcgc attgcgccca gcgccatctg atcgttggca accagcatcg cagtgggaac 5340
gatgccctca ttcagcattt gcatggtttg ttgaaaaccg gacatggcac tccagtcgcc 5400
ttcccgttcc gctatcggct gaatttgatt gcgagtgaga tatttatgcc agccagccag 5460
acgcagacgc gccgagacag aacttaatgg gcccgctaac agcgcgattt gctggtgacc 5520

caatgcgacc agatgctcca cgcccagtcg cgtaccgtct tcatgggaga aaataatact 5580
gttgatgggt gtctggtcag agacatcaag aaataacgcc ggaacattag tgcaggcagc 5640
ttccacagca atggcatcct ggtcatccag cggatagtta atgatcagcc cactgacgcg 5700
ttgcgcgaga agattgtgca ccgccgcttt acaggcttcg acgccgcttc gttctaccat 5760
cgacaccacc acgctggcac ccagttgatc ggcgcgagat ttaatcgccg cgacaatttg 5820
cgacggcgcg tgcagggcca gactggaggt ggcaacgcca atcagcaacg actgtttgcc 5880
cgccagttgt tgtgccacgc ggttgggaat gtaattcagc tccgccatcg ccgcttccac 5940
tttttcccgc gttttcgcag aaacgtggct ggcctggttc accacgcggg aaacggtctg 6000
ataagagaca ccggcatact ctgcgacatc gtataacgtt actggtttca cattcaccac 6060
cctgaattga ctctcttccg ggcgctatca tgccataccg cgaaaggttt tgcgccattc 6120
gatggtgtcc gggatctcga cgctctccct tatgcgactc ctgcattagg aagcagccca 6180
gtagtaggtt gaggccgttg agcaccgccg ccgcaaggaa tggtgcatgc aaggagatgg 6240
cgcccaacag tcccccggcc acggggcctg ccaccatacc cacgccgaaa caagcgctca 6300
tgagcccgaa gtggcgagcc cgatcttccc catcggtgat gtcggcgata taggcgccag 6360
caaccgcacc tgtggcgccg gtgatgccgg ccacgatgcg tccggcgtag aggatcga 6418

<210> 989
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HIS thẻ

<400> 989
His His His His His His
1 5

<210> 990
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HIS thẻ-SUMO

<400> 990
Met Gly His His His His His His Gly Ser Leu Gln Asp Ser Glu Val
1 5 10 15
Asn Gln Glu Ala Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Thr
20 25 30
His Ile Asn Leu Lys Val Ser Asp Gly Ser Ser Glu Ile Phe Phe Lys
35 40 45
Ile Lys Lys Thr Thr Pro Leu Arg Arg Leu Met Glu Ala Phe Ala Lys
50 55 60
Arg Gln Gly Lys Glu Met Asp Ser Leu Arg Phe Leu Tyr Asp Gly Ile
65 70 75 80
Arg Ile Gln Ala Asp Gln Ala Pro Glu Asp Leu Asp Met Glu Asp Asn
85 90 95
Asp Ile Ile Glu Ala His Arg Glu Gln Ile Gly Gly
100 105

<210> 991
<211> 585
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> human serum albumin

<220>

<400> 991
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1   5   10   15
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20   25   30
Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35   40   45
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50   55   60
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65   70   75   80
Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85   90   95
Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100   105   110
Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115   120   125
Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130   135   140
Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145   150   155   160
Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165   170   175
Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180   185   190
Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195   200   205
Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210   215   220
Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225   230   235   240
Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245   250   255
Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260   265   270
Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275   280   285
Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290   295   300
Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305   310   315   320
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325   330   335
Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340   345   350
Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355   360   365
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370   375   380
Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385   390   395   400
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405   410   415
Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

```
            420                 425                 430
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460
Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495
Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510
Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525
Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540
Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
                565                 570                 575
Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585
```

<210> 992
<211> 226
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Globulin miễn dịch Gamma-1 chuỗi nặng (FC)

<400> 992

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1               5                  10                  15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            20                  25                  30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220
```

Pro Gly
225

<210> 993
<211> 248
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Kháng týp-II collagen Kháng thể scFv Mảnh

<400> 993
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Asp Leu Val Arg Pro Gly Val
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Met Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Arg Leu Ser Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Pro Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Lys Pro Gly Gly Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser
130 135 140
Pro Ala Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys
145 150 155 160
Arg Ala Ser Lys Ser Val Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Phe Met Glu Trp
165 170 175
Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala
180 185 190
Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
195 200 205
Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Pro Val Glu Ala Asp Asp Val
210 215 220
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly
225 230 235 240
Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 994
<211> 103
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> human Tumor necrosis factor-stimulated gene-6
(TSG-6) aa residues 32-134 (HABP)

<400> 994
Glu Arg Ala Ala Gly Val Tyr His Arg Glu Ala Arg Ser Gly Lys Tyr
1 5 10 15
Lys Leu Thr Tyr Ala Glu Ala Lys Ala Val Cys Glu Phe Glu Gly Gly

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

<210> 995
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Furin trình tự hoạt hóa

<400> 995
Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Arg Arg Lys Arg
 1   5   10

<210> 996
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Furin trình tự hoạt hóa

<400> 996
Gln Ser Gly Gln Lys Thr Leu Arg Arg Arg Lys Arg
 1   5   10

<210> 997
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)
      trình tự hoạt hóa

<400> 997
Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg Phe Lys
 1   5   10

<210> 998
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HOẠT HÓA PLASMINOGEN LOẠI UROKINAZA (u-PA)

trình tự hoạt hóa

<400> 998
Gln Ser Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg Phe Lys
1 5 10

<210> 999
<211> 20
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> Ig kappa chuỗi V-III vùng signal peptit (IgGkSP)

<400> 999
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly
20

<210> 1000
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> human IL2 Signal Peptit (hIL2SP)

<400> 1000
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15
Val Thr Asn Ser
20

<210> 1001
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> GGGGS gen liên kết

<400> 1001
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 1002
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> GGSSGG gen liên kết

<400> 1002

Gly Gly Ser Ser Gly Gly
1 5

<210> 1003
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> AGS gen liên kết

<400> 1003
Ala Gly Ser
1

<210> 1004
<211> 514
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgGkSP-FC-AGS-uPA R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R fusion

<400> 1004
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
20 25 30
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
35 40 45
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
50 55 60
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
65 70 75 80
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
85 90 95
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
100 105 110
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
115 120 125
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
130 135 140
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
145 150 155 160
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
165 170 175
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
180 185 190
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
195 200 205
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
210 215 220
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
225 230 235 240
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ala Gly Ser Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu
245 250 255

Arg Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn
260 265 270
Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu
275 280 285
Tyr Tyr Arg Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser
290 295 300
Ala Thr His Cys Phe Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val
305 310 315 320
Tyr Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys
325 330 335
Phe Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile
340 345 350
Ala Ala Gln His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu
355 360 365
Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro
370 375 380
Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly
385 390 395 400
Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys
405 410 415
Met Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His
420 425 430
Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro
435 440 445
Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val
450 455 460
Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly
465 470 475 480
Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser
485 490 495
His Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu
500 505 510
Ala Leu

<210> 1005
<211> 431
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgGkSP-uPA
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/H99Q/Y149R

<400> 1005
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp
20 25 30
Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile
35 40 45
His Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile
50 55 60
Asp Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly
65 70 75 80
Lys Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser
85 90 95
Ala Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu

```
            100                 105                 110
Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg
        115                 120                 125
Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln
    130                 135                 140
Glu Cys Met Val His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro
145                 150                 155                 160
Pro Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg
                165                 170                 175
Phe Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp
            180                 185                 190
Phe Ala Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg
        195                 200                 205
Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His
    210                 215                 220
Cys Phe Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly
225                 230                 235                 240
Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val
                245                 250                 255
Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln
            260                 265                 270
His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys
        275                 280                 285
Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr
    290                 295                 300
Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Asn Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val
                325                 330                 335
Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly
            340                 345                 350
Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys
        355                 360                 365
Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu
    370                 375                 380
Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys
385                 390                 395                 400
Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu
                405                 410                 415
Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
            420                 425                 430
```

<210> 1006
<211> 505
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIL2ss-uPA
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R-IgG1Fc

<400> 1006

```
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1               5                  10                  15
Val Thr Asn Ser Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln
            20                  25                  30
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr
        35                  40                  45
```

```
Tyr Arg Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala
    50                  55                  60
Thr His Cys Phe Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe
                85                  90                  95
Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala
            100                 105                 110
Ala Gln His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly
        115                 120                 125
Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser
    130                 135                 140
Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe
145                 150                 155                 160
Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met
                165                 170                 175
Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr
            180                 185                 190
Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
        195                 200                 205
Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
    210                 215                 220
Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg
225                 230                 235                 240
Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His
                245                 250                 255
Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala
            260                 265                 270
Leu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
        275                 280                 285
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
    290                 295                 300
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
305                 310                 315                 320
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
                325                 330                 335
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
            340                 345                 350
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
        355                 360                 365
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
    370                 375                 380
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
385                 390                 395                 400
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
                405                 410                 415
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
            420                 425                 430
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
        435                 440                 445
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
    450                 455                 460
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
465                 470                 475                 480
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
                485                 490                 495
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
            500                 505
```

<210> 1007
<211> 864
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIL2ss-uPA R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L 97bA/H99Q/C122S/Y149R-HSA

<400> 1007

```
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1               5                  10                  15
Val Thr Asn Ser Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln
            20                  25                  30
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr
        35                  40                  45
Tyr Arg Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala
    50                  55                  60
Thr His Cys Phe Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe
                85                  90                  95
Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala
            100                 105                 110
Ala Gln His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly
        115                 120                 125
Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser
    130                 135                 140
Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe
145                 150                 155                 160
Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met
                165                 170                 175
Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr
            180                 185                 190
Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
        195                 200                 205
Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
    210                 215                 220
Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg
225                 230                 235                 240
Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His
                245                 250                 255
Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala
            260                 265                 270
Leu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His
        275                 280                 285
Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile
    290                 295                 300
Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys
305                 310                 315                 320
Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu
                325                 330                 335
Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
            340                 345                 350
Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp
        355                 360                 365
Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His
    370                 375                 380
Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp
```

385 390 395 400
Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys
405 410 415
Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu
420 425 430
Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys
435 440 445
Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu
450 455 460
Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala
465 470 475 480
Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala
485 490 495
Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys
500 505 510
Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp
515 520 525
Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys
530 535 540
Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys
545 550 555 560
Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu
565 570 575
Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys
580 585 590
Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met
595 600 605
Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu
610 615 620
Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys
625 630 635 640
Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe
645 650 655
Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu
660 665 670
Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val
675 680 685
Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
690 695 700
Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro
705 710 715 720
Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu
725 730 735
Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val
740 745 750
Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser
755 760 765
Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu
770 775 780
Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg
785 790 795 800
Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro
805 810 815
Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala
820 825 830
Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala
835 840 845
Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
850 855 860

<210> 1008
<211> 864
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIL2ss-uPA
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R-C2scFv

<400> 1008

```
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1               5                  10                  15
Val Thr Asn Ser Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln
            20                  25                  30
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr
        35                  40                  45
Tyr Arg Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala
    50                  55                  60
Thr His Cys Phe Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe
                85                  90                  95
Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala
            100                 105                 110
Ala Gln His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly
        115                 120                 125
Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser
    130                 135                 140
Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe
145                 150                 155                 160
Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met
                165                 170                 175
Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr
            180                 185                 190
Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
        195                 200                 205
Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
    210                 215                 220
Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg
225                 230                 235                 240
Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His
                245                 250                 255
Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala
            260                 265                 270
Leu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His
        275                 280                 285
Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile
    290                 295                 300
Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys
305                 310                 315                 320
Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu
                325                 330                 335
Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
            340                 345                 350
Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp
        355                 360                 365
Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His
    370                 375                 380
```

```
Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp
385                 390                 395                 400
Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys
                405                 410                 415
Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu
            420                 425                 430
Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys
        435                 440                 445
Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu
    450                 455                 460
Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala
465                 470                 475                 480
Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala
                485                 490                 495
Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys
            500                 505                 510
Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp
        515                 520                 525
Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys
    530                 535                 540
Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys
545                 550                 555                 560
Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu
                565                 570                 575
Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys
            580                 585                 590
Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met
        595                 600                 605
Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu
    610                 615                 620
Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys
625                 630                 635                 640
Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe
                645                 650                 655
Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu
            660                 665                 670
Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val
        675                 680                 685
Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
    690                 695                 700
Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro
705                 710                 715                 720
Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu
                725                 730                 735
Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val
            740                 745                 750
Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser
        755                 760                 765
Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu
    770                 775                 780
Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg
785                 790                 795                 800
Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro
                805                 810                 815
Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala
            820                 825                 830
Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala
        835                 840                 845
Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
    850                 855                 860
```

<210> 1009
<211> 382
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIL2ss-uPA R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L 97bA/H99Q/C122S/Y149R-HABD

<400> 1009

```
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1               5                  10                  15
Val Thr Asn Ser Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln
            20                  25                  30
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr
        35                  40                  45
Tyr Arg Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala
    50                  55                  60
Thr His Cys Phe Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe
                85                  90                  95
Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala
            100                 105                 110
Ala Gln His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly
        115                 120                 125
Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser
    130                 135                 140
Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe
145                 150                 155                 160
Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met
                165                 170                 175
Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr
            180                 185                 190
Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
        195                 200                 205
Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
    210                 215                 220
Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg
225                 230                 235                 240
Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His
                245                 250                 255
Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala
            260                 265                 270
Leu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Glu Arg Ala Ala Gly Val Tyr His Arg
        275                 280                 285
Glu Ala Arg Ser Gly Lys Tyr Lys Leu Thr Tyr Ala Glu Ala Lys Ala
    290                 295                 300
Val Cys Glu Phe Glu Gly Gly His Leu Ala Thr Tyr Lys Gln Leu Glu
305                 310                 315                 320
Ala Ala Arg Lys Ile Gly Phe His Val Cys Ala Ala Gly Trp Met Ala
                325                 330                 335
Lys Gly Arg Val Gly Tyr Pro Ile Val Lys Pro Gly Pro Asn Cys Gly
            340                 345                 350
Phe Gly Lys Thr Gly Ile Ile Asp Tyr Gly Ile Arg Leu Asn Arg Ser
        355                 360                 365
Glu Arg Trp Asp Ala Tyr Cys Tyr Asn Pro His Ala Lys Glu
```

370 375 380

<210> 1010
<211> 516
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgGkSP-Furin-uPA
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R-FC

<400> 1010
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Gln Ser Gly Gln Lys Thr Leu Arg Arg Lys Arg Ile
20 25 30
Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala
35 40 45
Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly Gly
50 55 60
Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe Ile
65 70 75 80
Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Arg
85 90 95
Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn Leu
100 105 110
Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn Asp
115 120 125
Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro
130 135 140
Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro
145 150 155 160
Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser
165 170 175
Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu
180 185 190
Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val
195 200 205
Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser
210 215 220
Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg
225 230 235 240
Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys
245 250 255
Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile
260 265 270
Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu Gly Gly Ser Ser
275 280 285
Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
290 295 300
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
305 310 315 320
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
325 330 335
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
340 345 350
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
355 360 365

```
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
    370                 375                 380
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
385                 390                 395                 400
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
                405                 410                 415
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
            420                 425                 430
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
        435                 440                 445
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
    450                 455                 460
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
465                 470                 475                 480
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
                485                 490                 495
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
            500                 505                 510
Leu Ser Pro Gly
        515
```

<210> 1011
<211> 663
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgGkSP-uPA
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/H99Q/Y149R-FC

<400> 1011

```
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1               5                  10                  15
Gly Ser Thr Gly Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp
            20                  25                  30
Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile
        35                  40                  45
His Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile
    50                  55                  60
Asp Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly
65                  70                  75                  80
Lys Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser
                85                  90                  95
Ala Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu
            100                 105                 110
Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg
        115                 120                 125
Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln
    130                 135                 140
Glu Cys Met Val His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro
145                 150                 155                 160
Pro Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg
                165                 170                 175
Phe Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp
            180                 185                 190
Phe Ala Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg
        195                 200                 205
Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His
```

```
    210                 215                 220
Cys Phe Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly
225                 230                 235                 240
Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val
                245                 250                 255
Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln
            260                 265                 270
His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys
        275                 280                 285
Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr
    290                 295                 300
Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Asn Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val
                325                 330                 335
Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly
            340                 345                 350
Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys
        355                 360                 365
Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu
    370                 375                 380
Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys
385                 390                 395                 400
Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu
                405                 410                 415
Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu Gly
            420                 425                 430
Gly Ser Ser Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
        435                 440                 445
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
    450                 455                 460
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
465                 470                 475                 480
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
                485                 490                 495
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
            500                 505                 510
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
        515                 520                 525
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
    530                 535                 540
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
545                 550                 555                 560
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
                565                 570                 575
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
            580                 585                 590
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
        595                 600                 605
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
    610                 615                 620
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
625                 630                 635                 640
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
                645                 650                 655
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
            660
```

<210> 1012

<211> 505
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIL2ss-uPA -FC

<400> 1012

```
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1               5                  10                  15
Val Thr Asn Ser Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln
            20                  25                  30
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr
        35                  40                  45
Tyr Val Cys Gly Gly Ser Leu Met Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala
    50                  55                  60
Thr His Cys Phe Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe
                85                  90                  95
Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu
            100                 105                 110
Ala His His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly
        115                 120                 125
Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser
    130                 135                 140
Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe
145                 150                 155                 160
Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met
                165                 170                 175
Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr
            180                 185                 190
Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
        195                 200                 205
Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
    210                 215                 220
Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg
225                 230                 235                 240
Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His
                245                 250                 255
Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala
            260                 265                 270
Leu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
        275                 280                 285
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
    290                 295                 300
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
305                 310                 315                 320
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
                325                 330                 335
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
            340                 345                 350
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
        355                 360                 365
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
    370                 375                 380
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
385                 390                 395                 400
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
                405                 410                 415
```

```
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
            420                 425                 430
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
        435                 440                 445
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
    450                 455                 460
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
465                 470                 475                 480
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
                485                 490                 495
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
            500                 505


<210> 1013
<211> 864
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIL2ss-uPA -HSA

<400> 1013
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1               5                  10                  15
Val Thr Asn Ser Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln
            20                  25                  30
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr
        35                  40                  45
Tyr Val Cys Gly Gly Ser Leu Met Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala
    50                  55                  60
Thr His Cys Phe Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe
                85                  90                  95
Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu
            100                 105                 110
Ala His His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly
        115                 120                 125
Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser
    130                 135                 140
Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe
145                 150                 155                 160
Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met
                165                 170                 175
Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr
            180                 185                 190
Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
        195                 200                 205
Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
    210                 215                 220
Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg
225                 230                 235                 240
Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His
                245                 250                 255
Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala
            260                 265                 270
Leu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His
        275                 280                 285
Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile
```

```
    290                 295                 300
Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys
305                 310                 315                 320
Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu
                325                 330                 335
Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
            340                 345                 350
Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp
        355                 360                 365
Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His
    370                 375                 380
Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp
385                 390                 395                 400
Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys
                405                 410                 415
Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu
            420                 425                 430
Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys
        435                 440                 445
Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu
    450                 455                 460
Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala
465                 470                 475                 480
Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala
                485                 490                 495
Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys
            500                 505                 510
Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp
        515                 520                 525
Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys
    530                 535                 540
Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys
545                 550                 555                 560
Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu
                565                 570                 575
Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys
            580                 585                 590
Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met
        595                 600                 605
Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu
    610                 615                 620
Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys
625                 630                 635                 640
Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe
                645                 650                 655
Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu
            660                 665                 670
Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val
        675                 680                 685
Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
    690                 695                 700
Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro
705                 710                 715                 720
Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu
                725                 730                 735
Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val
            740                 745                 750
Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser
        755                 760                 765
Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu
```

```
    770                 775                 780
Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg
785                 790                 795                 800
Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro
                805                 810                 815
Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala
            820                 825                 830
Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala
        835                 840                 845
Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
    850                 855                 860


<210> 1014
<211> 1022
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgGkSP-Furin-u-PA
      R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
      97bA/H99Q/Y149R-HSA

<400> 1014
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1               5                  10                  15
Gly Ser Thr Gly Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp
            20                  25                  30
Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile
        35                  40                  45
His Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile
    50                  55                  60
Asp Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly
65                  70                  75                  80
Lys Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser
                85                  90                  95
Ala Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu
            100                 105                 110
Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg
        115                 120                 125
Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln
    130                 135                 140
Glu Cys Met Val His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro
145                 150                 155                 160
Pro Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Arg Arg
                165                 170                 175
Lys Arg Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp
            180                 185                 190
Phe Ala Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg
        195                 200                 205
Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His
    210                 215                 220
Cys Phe Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly
225                 230                 235                 240
Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val
                245                 250                 255
Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln
            260                 265                 270
His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys
        275                 280                 285
```

```
Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr
    290                 295                 300
Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Asn Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val
                325                 330                 335
Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly
            340                 345                 350
Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys
        355                 360                 365
Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu
    370                 375                 380
Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys
385                 390                 395                 400
Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu
                405                 410                 415
Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu Gly
            420                 425                 430
Gly Ser Ser Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe
        435                 440                 445
Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe
    450                 455                 460
Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val
465                 470                 475                 480
Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala
                485                 490                 495
Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys
            500                 505                 510
Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys
        515                 520                 525
Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp
    530                 535                 540
Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met
545                 550                 555                 560
Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu
                565                 570                 575
Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu
            580                 585                 590
Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala
        595                 600                 605
Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp
    610                 615                 620
Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu
625                 630                 635                 640
Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu
                645                 650                 655
Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val
            660                 665                 670
Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu
        675                 680                 685
Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn
    690                 695                 700
Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu
705                 710                 715                 720
Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro
                725                 730                 735
Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val
            740                 745                 750
Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu
        755                 760                 765
```

Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu
770 775 780
Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala
785 790 795 800
Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro
805 810 815
Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe
820 825 830
Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr
835 840 845
Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser
850 855 860
Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala
865 870 875 880
Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln
885 890 895
Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys
900 905 910
Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu
915 920 925
Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe
930 935 940
Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile
945 950 955 960
Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala
965 970 975
Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val
980 985 990
Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu
995 1000 1005
Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
1010 1015 1020

<210> 1015
<211> 1022
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgGkSP-u-PA hoạt hóa-u-PA R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R-HSA

<400> 1015
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp
20 25 30
Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile
35 40 45
His Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile
50 55 60
Asp Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly
65 70 75 80
Lys Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser
85 90 95
Ala Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu
100 105 110
Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg

```
        115                 120                 125
Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln
    130                 135                 140
Glu Cys Met Val His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro
145                 150                 155                 160
Pro Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg
                165                 170                 175
Phe Lys Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp
            180                 185                 190
Phe Ala Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg
        195                 200                 205
Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His
    210                 215                 220
Cys Phe Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly
225                 230                 235                 240
Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val
                245                 250                 255
Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln
            260                 265                 270
His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys
        275                 280                 285
Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr
    290                 295                 300
Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Asn Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val
                325                 330                 335
Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly
            340                 345                 350
Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys
        355                 360                 365
Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu
    370                 375                 380
Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys
385                 390                 395                 400
Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu
                405                 410                 415
Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu Gly
            420                 425                 430
Gly Ser Ser Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe
        435                 440                 445
Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe
    450                 455                 460
Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val
465                 470                 475                 480
Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala
                485                 490                 495
Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys
            500                 505                 510
Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys
        515                 520                 525
Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp
    530                 535                 540
Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met
545                 550                 555                 560
Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu
                565                 570                 575
Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu
            580                 585                 590
Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala
```

595 600 605
Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp
610 615 620
Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu
625 630 635 640
Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu
645 650 655
Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val
660 665 670
Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu
675 680 685
Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn
690 695 700
Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu
705 710 715 720
Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro
725 730 735
Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val
740 745 750
Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu
755 760 765
Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu
770 775 780
Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala
785 790 795 800
Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro
805 810 815
Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe
820 825 830
Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr
835 840 845
Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser
850 855 860
Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala
865 870 875 880
Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln
885 890 895
Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys
900 905 910
Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu
915 920 925
Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe
930 935 940
Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile
945 950 955 960
Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala
965 970 975
Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val
980 985 990
Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu
995 1000 1005
Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
1010 1015 1020

<210> 1016
<211> 876
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgGkSP-furin hoạt hóa-uPA R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R-gen liên kết-HSA

<400> 1016

```
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1               5                  10                  15
Gly Ser Thr Gly Gln Ser Gly Gln Lys Thr Leu Arg Arg Arg Lys Arg
            20                  25                  30
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
        35                  40                  45
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
    50                  55                  60
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
65                  70                  75                  80
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
                85                  90                  95
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
            100                 105                 110
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
        115                 120                 125
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
    130                 135                 140
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
145                 150                 155                 160
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
                165                 170                 175
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
            180                 185                 190
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
        195                 200                 205
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
    210                 215                 220
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
225                 230                 235                 240
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
                245                 250                 255
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
            260                 265                 270
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu Gly Gly Ser
        275                 280                 285
Ser Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
    290                 295                 300
Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
305                 310                 315                 320
Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
                325                 330                 335
Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
            340                 345                 350
Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
        355                 360                 365
Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
    370                 375                 380
Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
385                 390                 395                 400
Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
                405                 410                 415
Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
            420                 425                 430
```

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
435 440 445
Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
450 455 460
Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
465 470 475 480
Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
485 490 495
Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
500 505 510
Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
515 520 525
Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
530 535 540
Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
545 550 555 560
Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
565 570 575
Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
580 585 590
Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
595 600 605
Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
610 615 620
Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
625 630 635 640
Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
645 650 655
Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
660 665 670
Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
675 680 685
Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
690 695 700
Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
705 710 715 720
Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
725 730 735
Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
740 745 750
Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
755 760 765
Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
770 775 780
Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
785 790 795 800
His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
805 810 815
Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
820 825 830
Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
835 840 845
Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
850 855 860
Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
865 870 875

<210> 1017
<211> 972

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgGkSS-HIS-SUMO-uPA
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R-gen liên kết-HSA

<400> 1017
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Asp Gly His His His His His His Gly Ser Leu Gln
20 25 30
Asp Ser Glu Val Asn Gln Glu Ala Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Val
35 40 45
Lys Pro Glu Thr His Ile Asn Leu Lys Val Ser Asp Gly Ser Ser Glu
50 55 60
Ile Phe Phe Lys Ile Lys Lys Thr Thr Pro Leu Arg Arg Leu Met Glu
65 70 75 80
Ala Phe Ala Lys Arg Gln Gly Lys Glu Met Asp Ser Leu Thr Phe Leu
85 90 95
Tyr Asp Gly Ile Glu Ile Gln Ala Asp Gln Thr Pro Glu Asp Leu Asp
100 105 110
Met Glu Asp Asn Asp Ile Ile Glu Ala His Arg Glu Gln Ile Gly Gly
115 120 125
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
130 135 140
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
145 150 155 160
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
165 170 175
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
180 185 190
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
195 200 205
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
210 215 220
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
225 230 235 240
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
245 250 255
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
260 265 270
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
275 280 285
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
290 295 300
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
305 310 315 320
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
325 330 335
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
340 345 350
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
355 360 365
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu Gly Gly Ser
370 375 380
Ser Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
385 390 395 400
Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln

```
                405                 410                 415
Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
            420                 425                 430
Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
        435                 440                 445
Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
    450                 455                 460
Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
465                 470                 475                 480
Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
                485                 490                 495
Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
            500                 505                 510
Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
        515                 520                 525
Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
    530                 535                 540
Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
545                 550                 555                 560
Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
                565                 570                 575
Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
            580                 585                 590
Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
        595                 600                 605
Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
    610                 615                 620
Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
625                 630                 635                 640
Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
                645                 650                 655
Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
            660                 665                 670
Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
        675                 680                 685
Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
    690                 695                 700
Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
705                 710                 715                 720
Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
                725                 730                 735
Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
            740                 745                 750
Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
        755                 760                 765
Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
    770                 775                 780
Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
785                 790                 795                 800
Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
                805                 810                 815
Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
            820                 825                 830
Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
        835                 840                 845
Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
    850                 855                 860
Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
865                 870                 875                 880
Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
```

```
                885                 890                 895
His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
            900                 905                 910
Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
        915                 920                 925
Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
    930                 935                 940
Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
945                 950                 955                 960
Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
                965                 970
```

<210> 1018
<211> 613
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgGkSS-HIS-SUMO-uPA R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/C122S/Y149R-gen liên kết-FC

<400> 1018

```
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1               5                  10                  15
Gly Ser Thr Gly Asp Gly His His His His His His Gly Ser Leu Gln
            20                  25                  30
Asp Ser Glu Val Asn Gln Glu Ala Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Val
        35                  40                  45
Lys Pro Glu Thr His Ile Asn Leu Lys Val Ser Asp Gly Ser Ser Glu
    50                  55                  60
Ile Phe Phe Lys Ile Lys Lys Thr Thr Pro Leu Arg Arg Leu Met Glu
65                  70                  75                  80
Ala Phe Ala Lys Arg Gln Gly Lys Glu Met Asp Ser Leu Thr Phe Leu
                85                  90                  95
Tyr Asp Gly Ile Glu Ile Gln Ala Asp Gln Thr Pro Glu Asp Leu Asp
            100                 105                 110
Met Glu Asp Asn Asp Ile Ile Glu Ala His Arg Glu Gln Ile Gly Gly
        115                 120                 125
Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala
    130                 135                 140
Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly
145                 150                 155                 160
Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe
                165                 170                 175
Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser
            180                 185                 190
Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn
        195                 200                 205
Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn
    210                 215                 220
Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln
225                 230                 235                 240
Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp
                245                 250                 255
Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn
            260                 265                 270
Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys
        275                 280                 285
```

```
Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu
    290                 295                 300
Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp
305                 310                 315                 320
Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly
                325                 330                 335
Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu
            340                 345                 350
Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp
        355                 360                 365
Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Ser Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
385                 390                 395                 400
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                405                 410                 415
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
            420                 425                 430
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        435                 440                 445
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    450                 455                 460
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
465                 470                 475                 480
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
                485                 490                 495
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
            500                 505                 510
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
        515                 520                 525
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
    530                 535                 540
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
545                 550                 555                 560
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
                565                 570                 575
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
            580                 585                 590
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
        595                 600                 605
Ser Leu Ser Pro Gly
    610
```

<210> 1019
<211> 1002
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> uPA N-term-uPA hoạt hóa-u-PA
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/H99Q/Y149R-HSA

<400> 1019

```
Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp Cys Leu Asn Gly
 1               5                  10                  15
Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile His Trp Cys Asn
            20                  25                  30
Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile Asp Lys Ser Lys
```

```
        35                  40                  45
Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly Lys Ala Ser Thr
    50                  55                  60
Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser Ala Thr Val Leu
65                  70                  75                  80
Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln Leu Gly Leu
                85                  90                  95
Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Arg Arg Pro Trp
            100                 105                 110
Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln Glu Cys Met Val
        115                 120                 125
His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro Glu Glu Leu
    130                 135                 140
Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Pro Arg Phe Lys Ile Ile
145                 150                 155                 160
Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile
                165                 170                 175
Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly Gly Ser
            180                 185                 190
Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Pro
        195                 200                 205
Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Arg Leu
    210                 215                 220
Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn Leu Ile
225                 230                 235                 240
Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn Asp Ile
                245                 250                 255
Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser
            260                 265                 270
Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln
        275                 280                 285
Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr
    290                 295                 300
Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile
305                 310                 315                 320
Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr
                325                 330                 335
Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys
            340                 345                 350
Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met
        355                 360                 365
Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp
    370                 375                 380
Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg
385                 390                 395                 400
Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu Gly Gly Ser Ser Gly
                405                 410                 415
Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly
            420                 425                 430
Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu
        435                 440                 445
Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr
    450                 455                 460
Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp
465                 470                 475                 480
Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr
                485                 490                 495
Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu
            500                 505                 510
Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn
```

```
        515                 520                 525
Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe
    530                 535                 540
His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala
545                 550                 555                 560
Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys
                565                 570                 575
Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala
            580                 585                 590
Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala
        595                 600                 605
Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly
    610                 615                 620
Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe
625                 630                 635                 640
Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr
                645                 650                 655
Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp
            660                 665                 670
Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile
        675                 680                 685
Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser
    690                 695                 700
His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro
705                 710                 715                 720
Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr
                725                 730                 735
Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala
            740                 745                 750
Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys
        755                 760                 765
Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His
    770                 775                 780
Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu
785                 790                 795                 800
Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly
                805                 810                 815
Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val
            820                 825                 830
Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly
        835                 840                 845
Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro
    850                 855                 860
Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu
865                 870                 875                 880
His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu
                885                 890                 895
Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu
            900                 905                 910
Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala
        915                 920                 925
Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr
    930                 935                 940
Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln
945                 950                 955                 960
Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys
                965                 970                 975
Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu
            980                 985                 990
Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
```

995 1000

<210> 1020
<211> 326
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> hIgG2 hằng định chuỗi nặng

<400> 1020
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr 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 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 1021
<211> 377
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> hIgG3 hằng định chuỗi nặng

<400> 1021
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr 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 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro
100 105 110
Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
115 120 125
Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys
130 135 140
Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
145 150 155 160
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
195 200 205
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220
Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
260 265 270
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
275 280 285
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320
Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
340 345 350
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
355 360 365
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 1022
<211> 327
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> hIgG4 hằng định chuỗi nặng

<400> 1022
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr 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 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 1023
<211> 227
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Globulin miễn dịch Gamma-1 chuỗi nặng (FC)

<400> 1023
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

```
            20                  25                  30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220
Pro Gly Lys
225
```

<210> 1024
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> SSSSG gen liên kết

<400> 1024
Ser Ser Ser Ser Gly
 1   5

<210> 1025
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> GKSSGSGSESKS gen liên kết

<400> 1025
Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser
 1   5   10

<210> 1026
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> GGSTSGSGKSSEGKG gen liên kết

<400> 1026
Gly Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Ser Ser Glu Gly Lys Gly
1 5 10 15

<210> 1027
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> GSTSGSGKSSSEGSGSTKG gen liên kết

<400> 1027
Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Ser Ser Ser Glu Gly Ser Gly Ser
1 5 10 15
Thr Lys Gly

<210> 1028
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> GSTSGSGKPGSGEGSTKG gen liên kết

<400> 1028
Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
1 5 10 15
Lys Gly

<210> 1029
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> EGKSSGSGSESKEF gen liên kết

<400> 1029
Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Glu Phe
1 5 10

<210> 1030
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> AAPA gen liên kết

<400> 1030

Ala Ala Pro Ala
1

<210> 1031
<211> 100
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> SUMO

<400> 1031
Gly Ser Leu Gln Asp Ser Glu Val Asn Gln Glu Ala Lys Pro Glu Val
1 5 10 15
Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Thr His Ile Asn Leu Lys Val Ser Asp
20 25 30
Gly Ser Ser Glu Ile Phe Phe Lys Ile Lys Lys Thr Thr Pro Leu Arg
35 40 45
Arg Leu Met Glu Ala Phe Ala Lys Arg Gln Gly Lys Glu Met Asp Ser
50 55 60
Leu Arg Phe Leu Tyr Asp Gly Ile Arg Ile Gln Ala Asp Gln Ala Pro
65 70 75 80
Glu Asp Leu Asp Met Glu Asp Asn Asp Ile Ile Glu Ala His Arg Glu
85 90 95
Gln Ile Gly Gly
100

<210> 1032
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> DG-6xHIS-SUMO

<400> 1032
Asp Gly His His His His His His Gly Ser Leu Gln Asp Ser Glu Val
1 5 10 15
Asn Gln Glu Ala Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Thr
20 25 30
His Ile Asn Leu Lys Val Ser Asp Gly Ser Ser Glu Ile Phe Phe Lys
35 40 45
Ile Lys Lys Thr Thr Pro Leu Arg Arg Leu Met Glu Ala Phe Ala Lys
50 55 60
Arg Gln Gly Lys Glu Met Asp Ser Leu Thr Phe Leu Tyr Asp Gly Ile
65 70 75 80
Glu Ile Gln Ala Asp Gln Thr Pro Glu Asp Leu Asp Met Glu Asp Asn
85 90 95
Asp Ile Ile Glu Ala His Arg Glu Gln Ile Gly Gly
100 105

<210> 1033
<211> 100
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> SUMO

<400> 1033
Gly Ser Leu Gln Asp Ser Glu Val Asn Gln Glu Ala Lys Pro Glu Val
1 5 10 15
Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Thr His Ile Asn Leu Lys Val Ser Asp
20 25 30
Gly Ser Ser Glu Ile Phe Phe Lys Ile Lys Lys Thr Thr Pro Leu Arg
35 40 45
Arg Leu Met Glu Ala Phe Ala Lys Arg Gln Gly Lys Glu Met Asp Ser
50 55 60
Leu Thr Phe Leu Tyr Asp Gly Ile Glu Ile Gln Ala Asp Gln Thr Pro
65 70 75 80
Glu Asp Leu Asp Met Glu Asp Asn Asp Ile Ile Glu Ala His Arg Glu
85 90 95
Gln Ile Gly Gly
100

<210> 1034
<211> 505
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIL2ss-uPA -FC

<400> 1034
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15
Val Thr Asn Ser Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln
20 25 30
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr
35 40 45
Tyr Val Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala
50 55 60
Thr His Cys Phe Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe
85 90 95
Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu
100 105 110
Ala His His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly
115 120 125
Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser
130 135 140
Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe
145 150 155 160
Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met
165 170 175
Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr
180 185 190
Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
195 200 205
Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
210 215 220
Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg
225 230 235 240
Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His
245 250 255

```
Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala
            260                 265                 270
Leu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
        275                 280                 285
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
    290                 295                 300
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
305                 310                 315                 320
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
                325                 330                 335
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
            340                 345                 350
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
        355                 360                 365
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
    370                 375                 380
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
385                 390                 395                 400
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
                405                 410                 415
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
            420                 425                 430
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
        435                 440                 445
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
    450                 455                 460
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
465                 470                 475                 480
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
                485                 490                 495
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
            500                 505
```

<210> 1035
<211> 867
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIL2ss-uPA -HSA

<400> 1035

```
Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
 1               5                  10                  15
Val Thr Asn Ser Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln
            20                  25                  30
Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Arg Arg His Arg Gly Gly Ser Val Thr
        35                  40                  45
Tyr Val Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala
    50                  55                  60
Thr His Cys Phe Ile Asp Tyr Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe
                85                  90                  95
Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Thr Leu
            100                 105                 110
Ala His His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly
        115                 120                 125
Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser
```

```
    130                 135                 140
Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe
145                 150                 155                 160
Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Tyr Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met
                165                 170                 175
Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr
            180                 185                 190
Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln
        195                 200                 205
Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys
    210                 215                 220
Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg
225                 230                 235                 240
Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His
                245                 250                 255
Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala
            260                 265                 270
Leu Gly Gly Ser Ser Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His
        275                 280                 285
Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile
    290                 295                 300
Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys
305                 310                 315                 320
Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu
                325                 330                 335
Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
            340                 345                 350
Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp
        355                 360                 365
Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His
    370                 375                 380
Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp
385                 390                 395                 400
Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys
                405                 410                 415
Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu
            420                 425                 430
Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys
        435                 440                 445
Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu
    450                 455                 460
Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala
465                 470                 475                 480
Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala
                485                 490                 495
Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys
            500                 505                 510
Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp
        515                 520                 525
Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys
    530                 535                 540
Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys
545                 550                 555                 560
Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu
                565                 570                 575
Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys
            580                 585                 590
Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met
        595                 600                 605
Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu
```

610 615 620
Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys
625 630 635 640
Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe
645 650 655
Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu
660 665 670
Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val
675 680 685
Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
690 695 700
Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro
705 710 715 720
Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu
725 730 735
Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val
740 745 750
Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser
755 760 765
Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu
770 775 780
Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg
785 790 795 800
Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro
805 810 815
Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala
820 825 830
Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala
835 840 845
Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
850 855 860
Ser Pro Gly
865

<210> 1036
<211> 663
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgGkSP-uPA N-term-furin hoạt hóa-u-PA R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R-gen liên kết-Fc

<400> 1036
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp
20 25 30
Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile
35 40 45
His Trp Cys Asn Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile
50 55 60
Asp Lys Ser Lys Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly
65 70 75 80
Lys Ala Ser Thr Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser
85 90 95
Ala Thr Val Leu Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu
100 105 110

```
Gln Leu Gly Leu Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg
        115                 120                 125
Arg Arg Pro Trp Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln
    130                 135                 140
Glu Cys Met Val His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro
145                 150                 155                 160
Pro Glu Glu Leu Lys Phe Gln Cys Gly Gln Lys Thr Leu Arg Arg Arg
                165                 170                 175
Lys Arg Ile Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp
            180                 185                 190
Phe Ala Ala Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg
        195                 200                 205
Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His
    210                 215                 220
Cys Phe Ile Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly
225                 230                 235                 240
Arg Ser Arg Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val
                245                 250                 255
Glu Asn Leu Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln
            260                 265                 270
His Asn Asp Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys
        275                 280                 285
Ala Gln Pro Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr
    290                 295                 300
Asn Asp Pro Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Asn Ser Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val
                325                 330                 335
Val Lys Leu Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly
            340                 345                 350
Ser Glu Val Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys
        355                 360                 365
Thr Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu
    370                 375                 380
Gln Gly Arg Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys
385                 390                 395                 400
Ala Leu Lys Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu
                405                 410                 415
Pro Trp Ile Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu Gly
            420                 425                 430
Gly Ser Ser Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
        435                 440                 445
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
    450                 455                 460
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
465                 470                 475                 480
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
                485                 490                 495
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
            500                 505                 510
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
        515                 520                 525
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
    530                 535                 540
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
545                 550                 555                 560
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
                565                 570                 575
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
            580                 585                 590
```

```
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
        595                 600                 605
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
    610                 615                 620
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
625                 630                 635                 640
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
                645                 650                 655
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
            660
```

<210> 1037
<211> 361
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HHHHHH-SUMO-uPA R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L97bA/H99Q/Y149R

<400> 1037

```
Met Gly His His His His His His Gly Ser Leu Gln Asp Ser Glu Val
 1               5                  10                  15
Asn Gln Glu Ala Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Thr
            20                  25                  30
His Ile Asn Leu Lys Val Ser Asp Gly Ser Ser Glu Ile Phe Phe Lys
        35                  40                  45
Ile Lys Lys Thr Thr Pro Leu Arg Arg Leu Met Glu Ala Phe Ala Lys
    50                  55                  60
Arg Gln Gly Lys Glu Met Asp Ser Leu Arg Phe Leu Tyr Asp Gly Ile
65                  70                  75                  80
Arg Ile Gln Ala Asp Gln Ala Pro Glu Asp Leu Asp Met Glu Asp Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ile Glu Ala His Arg Glu Gln Ile Gly Gly Ile Ile Gly Gly
            100                 105                 110
Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Gln
        115                 120                 125
Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly Gly Ser Leu Ile
    130                 135                 140
Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Pro Gln Pro
145                 150                 155                 160
Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser
                165                 170                 175
Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His
            180                 185                 190
Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn Asp Ile Ala Leu
        195                 200                 205
Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr
    210                 215                 220
Ile Gln Thr Ile Cys Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly
225                 230                 235                 240
Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Arg
                245                 250                 255
Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His
            260                 265                 270
Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys
        275                 280                 285
Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly
```

```
    290                 295                 300
Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu
305                 310                 315                 320
Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro
                325                 330                 335
Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His
            340                 345                 350
Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
        355                 360
```

<210> 1038
<211> 361
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HHHHHH-SUMO-uPA
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R

<400> 1038

```
Met Gly His His His His His His Gly Ser Leu Gln Asp Ser Glu Val
 1               5                  10                  15
Asn Gln Glu Ala Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Thr
            20                  25                  30
His Ile Asn Leu Lys Val Ser Asp Gly Ser Ser Glu Ile Phe Phe Lys
        35                  40                  45
Ile Lys Lys Thr Thr Pro Leu Arg Arg Leu Met Glu Ala Phe Ala Lys
    50                  55                  60
Arg Gln Gly Lys Glu Met Asp Ser Leu Arg Phe Leu Tyr Asp Gly Ile
65                  70                  75                  80
Arg Ile Gln Ala Asp Gln Ala Pro Glu Asp Leu Asp Met Glu Asp Asn
                85                  90                  95
Asp Ile Ile Glu Ala His Arg Glu Gln Ile Gly Gly Ile Ile Gly Gly
            100                 105                 110
Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Gln
        115                 120                 125
Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly Gly Ser Leu Ile
    130                 135                 140
Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Pro Gln Pro
145                 150                 155                 160
Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser
                165                 170                 175
Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His
            180                 185                 190
Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn Asp Ile Ala Leu
        195                 200                 205
Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr
    210                 215                 220
Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly
225                 230                 235                 240
Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Arg
                245                 250                 255
Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His
            260                 265                 270
Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys
        275                 280                 285
Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly
    290                 295                 300
```

Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu
305 310 315 320
Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro
325 330 335
Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His
340 345 350
Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu
355 360

<210> 1039
<211> 366
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HHHHHH-SUMO-uPA
R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L
97bA/H99Q/C122S/Y149R-GGSCK

<400> 1039
Met Gly His His His His His His Gly Ser Leu Gln Asp Ser Glu Val
1 5 10 15
Asn Gln Glu Ala Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Val Lys Pro Glu Thr
20 25 30
His Ile Asn Leu Lys Val Ser Asp Gly Ser Ser Glu Ile Phe Phe Lys
35 40 45
Ile Lys Lys Thr Thr Pro Leu Arg Arg Leu Met Glu Ala Phe Ala Lys
50 55 60
Arg Gln Gly Lys Glu Met Asp Ser Leu Arg Phe Leu Tyr Asp Gly Ile
65 70 75 80
Arg Ile Gln Ala Asp Gln Ala Pro Glu Asp Leu Asp Met Glu Asp Asn
85 90 95
Asp Ile Ile Glu Ala His Arg Glu Gln Ile Gly Gly Ile Ile Gly Gly
100 105 110
Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala Ile Tyr Gln
115 120 125
Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly Gly Ser Leu Ile
130 135 140
Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe Ile Pro Gln Pro
145 150 155 160
Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Arg Leu Asn Ser
165 170 175
Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn Leu Ile Leu His
180 185 190
Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn Asp Ile Ala Leu
195 200 205
Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro Ser Arg Thr
210 215 220
Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro Gln Phe Gly
225 230 235 240
Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser Thr Asp Arg
245 250 255
Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu Ile Ser His
260 265 270
Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val Thr Thr Lys
275 280 285
Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser Cys Gln Gly
290 295 300
Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg Met Thr Leu

305 310 315 320
Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys Asp Lys Pro
325 330 335
Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile Arg Ser His
340 345 350
Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu Gly Gly Ser Cys Lys
355 360 365

<210> 1040
<211> 875
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgGkSP-furin hoạt hóa-uPA R35Q/H37Y/R37aE/V38E/T39Y/V41R/D60aP/Y60bQ/T97aI/L 97bA/H99Q/C122S/Y149R-gen liên kết-HSA

<400> 1040
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Gln Ser Gly Gln Lys Thr Leu Arg Arg Lys Arg Ile
20 25 30
Ile Gly Gly Glu Phe Thr Thr Ile Glu Asn Gln Pro Trp Phe Ala Ala
35 40 45
Ile Tyr Gln Arg Tyr Glu Gly Gly Ser Glu Tyr Tyr Arg Cys Gly Gly
50 55 60
Ser Leu Ile Ser Pro Cys Trp Val Ile Ser Ala Thr His Cys Phe Ile
65 70 75 80
Pro Gln Pro Lys Lys Glu Asp Tyr Ile Val Tyr Leu Gly Arg Ser Arg
85 90 95
Leu Asn Ser Asn Thr Gln Gly Glu Met Lys Phe Glu Val Glu Asn Leu
100 105 110
Ile Leu His Lys Asp Tyr Ser Ala Asp Ile Ala Ala Gln His Asn Asp
115 120 125
Ile Ala Leu Leu Lys Ile Arg Ser Lys Glu Gly Arg Cys Ala Gln Pro
130 135 140
Ser Arg Thr Ile Gln Thr Ile Ser Leu Pro Ser Met Tyr Asn Asp Pro
145 150 155 160
Gln Phe Gly Thr Ser Cys Glu Ile Thr Gly Phe Gly Lys Glu Asn Ser
165 170 175
Thr Asp Arg Leu Tyr Pro Glu Gln Leu Lys Met Thr Val Val Lys Leu
180 185 190
Ile Ser His Arg Glu Cys Gln Gln Pro His Tyr Tyr Gly Ser Glu Val
195 200 205
Thr Thr Lys Met Leu Cys Ala Ala Asp Pro Gln Trp Lys Thr Asp Ser
210 215 220
Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Ser Leu Gln Gly Arg
225 230 235 240
Met Thr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Arg Gly Cys Ala Leu Lys
245 250 255
Asp Lys Pro Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser His Phe Leu Pro Trp Ile
260 265 270
Arg Ser His Thr Lys Glu Glu Asn Gly Leu Ala Leu Gly Gly Ser Ser
275 280 285
Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu
290 295 300
Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr
305 310 315 320

```
Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val
                325                 330                 335
Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys
            340                 345                 350
Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala
        355                 360                 365
Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln
    370                 375                 380
Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro
385                 390                 395                 400
Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala
                405                 410                 415
Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile
            420                 425                 430
Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala
        435                 440                 445
Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys
    450                 455                 460
Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys
465                 470                 475                 480
Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe
                485                 490                 495
Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg
            500                 505                 510
Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu
        515                 520                 525
Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala
    530                 535                 540
Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser
545                 550                 555                 560
Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys
                565                 570                 575
Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu
            580                 585                 590
Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn
        595                 600                 605
Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr
    610                 615                 620
Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala
625                 630                 635                 640
Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro
                645                 650                 655
His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu
            660                 665                 670
Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu
        675                 680                 685
Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys
    690                 695                 700
Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu
705                 710                 715                 720
Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met
                725                 730                 735
Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val
            740                 745                 750
Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr
        755                 760                 765
Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp
    770                 775                 780
Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His
785                 790                 795                 800
```

Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln
805 810 815
Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu
820 825 830
Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys
835 840 845
Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys
850 855 860
Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
865 870 875

<210> 1041
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Furin trình tự hoạt hóa

<400> 1041
Gln Ser Gly Lys Thr Leu Arg Arg Lys Arg
1 5 10

<210> 1042
<211> 146
<212> PRT
<213> uPA Đầu tận N

<400> 1042
Ser Asn Glu Leu His Gln Val Pro Ser Asn Cys Asp Cys Leu Asn Gly
1 5 10 15
Gly Thr Cys Val Ser Asn Lys Tyr Phe Ser Asn Ile His Trp Cys Asn
20 25 30
Cys Pro Lys Lys Phe Gly Gly Gln His Cys Glu Ile Asp Lys Ser Lys
35 40 45
Thr Cys Tyr Glu Gly Asn Gly His Phe Tyr Arg Gly Lys Ala Ser Thr
50 55 60
Asp Thr Met Gly Arg Pro Cys Leu Pro Trp Asn Ser Ala Thr Val Leu
65 70 75 80
Gln Gln Thr Tyr His Ala His Arg Ser Asp Ala Leu Gln Leu Gly Leu
85 90 95
Gly Lys His Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Arg Arg Arg Pro Trp
100 105 110
Cys Tyr Val Gln Val Gly Leu Lys Pro Leu Val Gln Glu Cys Met Val
115 120 125
His Asp Cys Ala Asp Gly Lys Lys Pro Ser Ser Pro Pro Glu Glu Leu
130 135 140
Lys Phe
145

<210> 1043
<211> 255
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi A, IG GAMMA-1 CHUỖI C VÙNG

<400> 1043
Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala
1 5 10 15
Thr Val Ala Gln Ala Asp Val Glu Ser Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
20 25 30
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
35 40 45
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
50 55 60
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
65 70 75 80
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
85 90 95
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
100 105 110
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
115 120 125
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
130 135 140
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
145 150 155 160
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
165 170 175
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
180 185 190
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
195 200 205
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
210 215 220
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
225 230 235 240
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250 255

<210> 1044
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Furin

<400> 1044
Gln Ser Gly Gln Lys Thr Leu Arg Arg Lys Arg
1 5 10