



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

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

(11)



1-0047545

(51)^{2020.01} A61K 9/00; A61K 45/06; C12N 9/26; (13) B
A61P 35/00; A61K 39/395; A61K 47/42

(21) 1-2021-06635

(22) 24/03/2020

(86) PCT/KR2020/003975 24/03/2020

(87) WO2020/197230 01/10/2020

(30) 10-2019-0033880 25/03/2019 KR

(45) 25/06/2025 447

(43) 27/12/2021 405A

(73) ALTEOGEN INC. (KR)

62, Yuseong-daero 1628beon-gil Yuseong-gu Daejeon 34054, Republic of Korea

(72) PARK, Soon Jae (KR); CHUNG, Hye-Shin (KR); LEE, Seung Joo (KR); KIM, Kyuwan (KR); BYUN, Minsoo (KR); NAM, Ki Seok (KR).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) CHẾ PHẨM BAO GỒM PEMBROLIZUMAB VÀ BIẾN THỂ PH20

(21) 1-2021-06635

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa (a) dược chất và (b) biến thể PH20 ở người. Biến thể PH20 ở người được chứa trong dược phẩm theo sáng chế bao gồm (các) đột biến thay thế gốc axit amin ở một hoặc nhiều vùng được chọn từ vùng xoắn alpha 8 (từ S347 đến C381) và vùng cầu nối (từ A333 đến R346) giữa xoắn alpha 7 và xoắn alpha 8 ở PH20 kiểu đại ở người có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 1, trong đó (các) gốc axit amin nằm ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C được phân cắt có chọn lọc. Ngoài ra, dược phẩm theo sáng chế có thể còn chứa chất phụ gia dược dụng, cụ thể là chất ổn định. Dược phẩm theo sáng chế có thể tối đa tác dụng trị liệu của dược chất được sử dụng kết hợp với nó, do tác dụng của biến thể PH20 ở người.

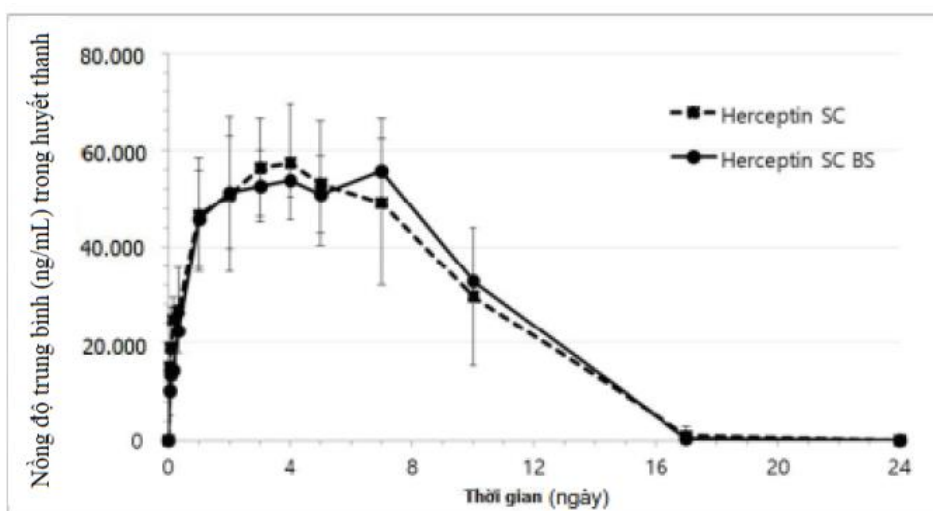


FIG. 20

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến được phẩm chứa biến thể hyaluronidaza PH20 ở người có hoạt tính enzym và độ ổn định nhiệt tăng cường và một hoặc nhiều được chất, và phương pháp điều trị bệnh bằng cách sử dụng được phẩm này.

Tốt hơn là, được phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để tiêm dưới da.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các được chất phải dùng ở liều cao hoặc nhiều liều, đặc biệt là được chất kháng thể và được chất tương tự, thường được dùng qua đường tiêm trong tĩnh mạch, và việc tiêm như vậy diễn ra khoảng 90 phút hoặc dài hơn, nên phải kèm theo quy trình chuẩn bị bổ sung để tiêm trong tĩnh mạch, do đó cả bệnh nhân, bác sĩ và nhân viên y tế đều bất tiện, và phải chịu chi phí bổ sung. Ngược lại, việc tiêm dưới da có ưu điểm là cho phép dùng ngay lập tức, nhưng tỷ lệ hấp thu là tương đối thấp so với tiêm trong tĩnh mạch, và khi tiêm với lượng từ 3 đến 5 mL hoặc nhiều hơn, nó có thể gây ra phù và đau ở vị trí tiêm, vì sự hấp thu xảy ra chậm. Vì lý do này, nên việc tiêm dưới da chất trị liệu protein thường bị giới hạn ở việc tiêm dung dịch với lượng nhỏ là 2 mL hoặc ít hơn. Tuy nhiên, khi dùng dưới da (hoặc tiêm dưới da) hyaluronidaza cùng với được chất trị liệu, axit hyaluronic được phân bố trong chất nền ngoại bào được thủy phân bằng hoạt động của hyaluronidaza, và do đó độ nhớt của khu vực dưới da bị giảm và tính thấm của chất được tăng lên, và do đó, được chất liều cao hoặc nhiều liều có thể dễ dàng được phân phối vào trong cơ thể.

Có sáu loại gen hyaluronidaza ở người: Hyal1, Hyal2, Hyal3, Hyal4, HyalPS1, và PH20/SPAM1. Hyal1 và Hyal2 được biểu hiện ở hầu hết các mô, và PH20/SPAM1 (sau đây, được gọi là PH20) được biểu hiện ở màng tế bào tinh trùng và màng acrosome. HyalPS1 không được biểu hiện bởi vì nó là gen giả. PH20 là enzym (EC 3.2.1.35) phân tách liên kết β -1,4 giữa N-acetylglucosamin và axit glucuronic, là đường cấu thành axit hyaluronic. Hyaluronidaza PH20 ở người có độ pH tối ưu 5,5, nhưng thể hiện một số hoạt tính ngay cả ở độ pH từ 7 đến 8, trong khi đó các hyaluronidaza ở người khác, bao gồm Hyal1, có độ pH tối ưu từ 3 đến 4 và có hoạt tính rất yếu ở độ pH từ 7 đến 8. Độ pH của khu vực dưới da ở người là khoảng 7,4, gần như là trung tính, và do đó, trong số các loại

hyaluronidaza khác nhau, PH20 được áp dụng rộng rãi trong sử dụng lâm sàng. Ví dụ về việc sử dụng PH20 lâm sàng bao gồm tiêm dưới da chất trị liệu kháng thể, sử dụng làm chất làm giãn mắt và chất phụ gia gây mê trong phẫu thuật mắt, sử dụng trong việc tăng cường sự tiếp cận của chất trị liệu chống ung thư với tế bào khối u bằng cách thủy phân axit hyaluronic trong chất nền ngoại bào của tế bào khối u, và sử dụng trong việc thúc đẩy sự tái hấp thụ chất lỏng và máu của cơ thể xuất hiện quá mức trong mô.

Trong khi đó, PH20 có bán trên thị trường hiện nay ở dạng được chiết xuất từ tinh hoàn của gia súc hoặc cừu. Ví dụ về chúng bao gồm Amphadase® (hyaluronidaza bò) và Vitrase® (hyaluronidaza cừu).

Hyaluronidaza tinh hoàn bò (Bovine testicular hyaluronidase - BTH) thu được bằng cách loại bỏ peptit tín hiệu và 56 axit amin trên đầu tận cùng C từ PH20 kiểu đại của bò trong quá trình biến đổi sau dịch mã. BTH cũng là glycoprotein, và có hàm lượng mannoza bằng 5% và hàm lượng glucosamin bằng 2,2%, tính trên toàn bộ thành phần của chúng bao gồm axit amin (Borders và Raftery, 1968). Khi hyaluronidaza thu được từ động vật được dùng lặp lại vào cơ thể người ở liều cao, thì kháng thể trung hòa có thể được tạo ra, và các vật liệu sinh học thu được từ động vật khác chứa tạp chất ngoài PH20 có thể gây ra phản ứng dị ứng. Cụ thể là, việc sử dụng PH20 được chiết xuất từ gia súc bị hạn chế do lo ngại về bệnh bò điên. Để khắc phục các vấn đề này, các nghiên cứu trên protein PH20 tái tổ hợp ở người đã được thực hiện.

Protein PH20 tái tổ hợp ở người đã được báo cáo là được biểu hiện trong nấm men (*P. pastoris*), tế bào côn trùng DS-2, tế bào động vật, và tế bào tương tự (Chen et al., 2016, Hofinger et al., 2007). Protein PH20 tái tổ hợp được tạo ra ở tế bào côn trùng và nấm men khác với PH20 ở người về kiểu N-glycosyl hóa trong quá trình biến đổi sau dịch mã.

Trong số các hyaluronidaza, cấu trúc protein của Hyal1 (PDB ID: 2PE4) (Chao et al., 2007) và hyaluronidaza nọc của ong (PDB ID: 1FCQ, 1FCU, 1FCV) đã được xác định. Hyal1 cấu thành từ hai miền, miền xúc tác và miền giống EGF, và miền xúc tác ở dạng $(\beta/\alpha)_8$, trong đó mỗi xoắn alpha và sợi beta, đặc trưng cho cấu trúc bậc hai của protein, được lặp lại tám lần (Chao et al., 2007). Miền giống EGF được bảo toàn hoàn toàn trong các biến thể trong đó đầu tận cùng C của Hyal1 được nối khác nhau. Trình tự

axit amin của Hyal1 và PH20 tương đồng 35,1%, và cấu trúc protein bậc ba của PH20 chưa được tìm thấy.

Trong nghiên cứu mối quan hệ cấu trúc/chức năng của PH20 ở người, vùng đầu tận cùng C của PH20 được phát hiện ra là quan trọng đối với sự biểu hiện của protein và hoạt tính enzym, và cụ thể là, đã được báo cáo rằng kết thúc của đầu tận cùng C bằng các axit amin từ 477 đến 483 là quan trọng đối với sự biểu hiện và hoạt tính enzym (Frost, 2007). Hoạt tính của PH20 có độ dài đầy đủ (axit amin từ 1 đến 509) hoặc biến thể pH20 có đầu tận cùng C bị cắt cụt ở vị trí 467 chỉ là 10% hoặc ít hơn hoạt tính của biến thể pH20 có đầu tận cùng C bị cắt cụt ở một vị trí trong số các vị trí từ 477 đến 483 (Frost, 2007). Halozyme Therapeutics đã phát triển rHuPH20 (các axit amin từ 36 đến 482), là protein tái tổ hợp trong đó đầu tận cùng C của PH20 thành thực được phân cắt ở Y482 (Bookbinder et al., 2006; Frost, 2007).

Trong khi đó, mặc dù nghiên cứu đang được tiến hành để phát triển các loại dược chất trị liệu khác nhau ở dạng tiêm dưới da bằng cách sử dụng PH20 ở người, vấn đề về độ ổn định thấp của PH20 ở người vẫn chưa được giải quyết.

Đối với tình trạng kỹ thuật được đề cập này, các tác giả sáng chế đã xác nhận rằng biến thể PH20 ở người, bao gồm một hoặc nhiều đột biến thay thế gốc axit amin ở vùng xoắn alpha 8 (từ S347 đến C381) và vùng cầu nối (từ A333 đến R346) giữa xoắn alpha 7 và xoắn alpha 8 trong trình tự axit amin của hyaluronidaza PH20 kiểu dại, và trong đó một số axit amin nằm ở đầu tận cùng N và/hoặc đầu tận cùng C của PH20 được phân cắt, có hoạt tính enzym và độ ổn định nhiệt rất cao, và do đó đã nộp đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế cho biến thể này (PCT/KR2019/009215).

Các tác giả sáng chế cũng đã xác nhận rằng biến thể PH20 theo sáng chế có thể được áp dụng cho dược phẩm hoặc chế phẩm chứa dược chất, ví dụ, dược chất kháng thể, cụ thể là kháng thể kháng HER2 hoặc kháng thể điểm kiểm tra miễn dịch liều cao, và do đó, dược phẩm và chế phẩm theo sáng chế bao gồm biến thể PH20 cùng với dược chất như kháng thể kháng HER2 hoặc kháng thể điểm kiểm tra miễn dịch có thể được sử dụng để tiêm dưới da, và hoạt tính của các dược chất như dược chất kháng thể và biến thể PH20 là rất ổn định và có thể được duy trì trong thời gian dài, do đó tạo ra sáng chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Do đó, sáng chế đã được tạo ra khi xem xét đến các vấn đề nêu trên, và mục đích của sáng chế là đề xuất được phẩm mới chứa biến thể PH20 có hoạt tính enzym và độ ổn định nhiệt tăng cường và được chất, trong đó độ ổn định nhiệt và hoạt tính của được chất và biến thể PH20 có thể được duy trì trong thời gian dài, cụ thể là được phẩm mà có thể được sử dụng để tiêm dưới da.

Một mục đích khác của sáng chế là mô tả phương pháp điều trị bệnh bao gồm việc dùng được phẩm theo sáng chế cho đối tượng cần được điều trị.

Giải pháp kỹ thuật

Theo sáng chế, các mục đích ở trên và các mục đích khác có thể được thực hiện bằng cách tạo ra được phẩm chứa (a) được chất và (b) biến thể PH20.

Biến thể PH20 chứa trong được phẩm theo sáng chế có thể bao gồm một hoặc nhiều thay thế gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm S343E, M345T, K349E, L353A, L354I, N356E, và I361T ở PH20 kiểu đại ở người có trình tự axit amin SEQ ID NO: 1, và có thể bao gồm thêm (các) thay thế gốc axit amin ở một hoặc nhiều vùng được chọn từ vùng xoắn alpha 8 (từ S347 đến C381) và/hoặc vùng cầu nối (từ A333 đến R346) giữa xoắn alpha 7 và xoắn alpha 8, trong đó một số gốc axit amin nằm ở đầu tận cùng N và/hoặc đầu tận cùng C được phân cắt có chọn lọc.

Được phẩm theo sáng chế có thể chứa thêm một hoặc nhiều chất được chọn từ chất phụ gia được dụng, cụ thể là chất đệm, chất ổn định, và chất hoạt động bề mặt.

Được phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng chế phẩm tiêm để tiêm dưới da.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Các mục đích ở trên và các mục đích khác, các dấu hiệu và các ưu điểm khác của sáng chế sẽ được hiểu rõ ràng hơn từ phần mô tả chi tiết sau đây kết hợp với các hình vẽ kèm theo, trong đó:

FIG. 1A minh họa sắc ký đồ của sắc ký loại trừ kích cỡ của trastuzumab trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 45°C, và FIG. 1B minh họa sự thay đổi về độ tinh khiết của protein monome trastuzumab theo chế phẩm trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 45°C;

FIG. 2 minh họa kết quả đo nhiệt độ kết tụ protein của chế phẩm chứa trastuzumab và biến thể PH20 HP46 mới;

FIG. 3A là sắc ký đồ trao đổi cation yếu (WCX-weak cation exchange) của trastuzumab trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 45°C, FIG. 3B minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của biến thể axit ở chế phẩm trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 45°C, FIG. 3C minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của đỉnh chính đối với chế phẩm trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 45°C, và FIG. 3D minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của biến thể bazơ ở chế phẩm trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 45°C;

FIG. 4 minh họa sự thay đổi về độ tinh khiết của protein monome trastuzumab ở chế phẩm từ 5 đến 7 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 45°C;

FIG. 5A minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của biến thể axit ở chế phẩm từ 5 đến 7 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 45°C, FIG. 5B minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của đỉnh chính theo chế phẩm 5, 6, và 7 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 45°C, và FIG. 5C minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của biến thể bazơ theo chế phẩm 5, 6, và 7 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 45°C;

FIG. 6A minh họa kết quả đo hoạt tính enzym còn lại của chế phẩm tiêm dưới da Herceptin (Herceptin SC), trastuzumab + PH20 kiểu đại (HW2), và trastuzumab + biến thể PH20 HP46 vào ngày 0 và ngày 1 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C, và FIG. 6B minh họa kết quả đo hoạt tính enzym còn lại của chế phẩm tiêm dưới da Herceptin, trastuzumab + PH20 kiểu đại (HW2), và trastuzumab + biến thể PH20 HP46 vào ngày 0 và ngày 1 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 45°C;

FIG. 7 minh họa kết quả phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ của các chế phẩm từ 8 đến 10 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C trong 14 ngày;

FIG. 8A minh họa kết quả đo sự thay đổi về kích thước hạt protein của các chế phẩm từ 8 đến 10 sử dụng thiết bị DLS, và FIG. 8B minh họa kết quả đo nhiệt độ kết tụ protein;

FIG. 9A minh họa sắc ký đồ trao đổi cation yếu (WCX) của chế phẩm 8 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C, FIG. 9B minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của biến thể axit ở chế phẩm từ 8 đến 10 trong thử nghiệm độ ổn định

dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C, FIG. 9C minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của đỉnh chính đối với chế phẩm từ 8 đến 10 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C, và FIG. 9D minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của biến thể bazơ ở chế phẩm từ 8 đến 10 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C;

FIG. 10 minh họa sự thay đổi (%) về hoạt tính enzym tương đối của các chế phẩm từ 8 đến 10 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C;

FIG. 11 minh họa sự thay đổi về độ tinh khiết của monome trastuzumab của các chế phẩm từ 11 đến 13 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C;

FIG. 12A minh họa sắc ký đồ trao đổi cation yếu (WCX) của chế phẩm 11 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C, FIG. 12B minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của biến thể axit ở chế phẩm từ 11 đến 13 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C, FIG. 12C minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của đỉnh chính đối với chế phẩm từ 11 đến 13 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C, và FIG. 12D minh họa sự thay đổi (%) về lượng tương đối của biến thể bazơ ở chế phẩm từ 11 đến 13 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C;

FIG. 13 minh họa sự thay đổi (%) về hoạt tính enzym tương đối của các chế phẩm từ 11 đến 13 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C;

FIG. 14 minh họa sự thay đổi về độ tinh khiết của monome rituximab của các chế phẩm từ 14 đến 16 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C;

FIG. 15 minh họa sự thay đổi về hoạt tính enzym tương đối của các chế phẩm từ 14 đến 16 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C;

FIG. 16 minh họa sự thay đổi về hoạt tính enzym tương đối của chế phẩm 17 và 18 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C;

FIG. 17 minh họa kết quả phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ của các chế phẩm từ 19 đến 22 ở 40°C;

FIG. 18 minh họa sự thay đổi về hoạt tính enzym tương đối của các chế phẩm từ 19 đến 22 trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt ở 40°C;

FIG. 19 minh họa sự thay đổi về hoạt tính enzym theo sự thay đổi về độ pH đối với PH20 và HP46 tái tổ hợp ở người; và

FIG. 20 minh họa kết quả thử nghiệm dược động học của sản phẩm tiêm dưới da Herceptin (Herceptin SC) và ứng viên sinh học tương tự tiêm dưới da Herceptin (trastuzumab + HP46; Herceptin SC BS) ở chuột Sprague-Dawley 9 tuần tuổi, trong đó Herceptin và ứng viên sinh học tương tự Herceptin được tiêm với 18 mg/kg mỗi loại, và chế phẩm tiêm dưới da chứa rHuPH20 100 đơn vị và HP46 100 đơn vị (ở độ pH 5,3).

Mô tả chi tiết sáng chế

Trừ khi có định nghĩa khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng ở đây có cùng nghĩa với các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được hiểu chung bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập. Nhìn chung, thuật ngữ được sử dụng ở đây đã được biết rõ và được sử dụng phổ biến trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Một phương án của sáng chế đề xuất được phẩm chứa (a) dược chất và (b) biến thể PH20, và được phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh, và tốt hơn là được sử dụng để tiêm dưới da.

Biến thể PH20 ở người được chứa trong dược phẩm theo sáng chế có một số đột biến thay thế gốc axit amin ở vùng tương ứng với vùng xoắn alpha và/hoặc vùng cầu nối của chúng, tốt hơn là vùng xoắn alpha 8 (từ S347 đến C381) và/hoặc vùng cầu nối (từ A333 đến R346) giữa xoắn alpha 7 và xoắn alpha 8, tốt hơn nữa là vùng axit amin từ T341 đến N363, và tốt nhất là từ T341 đến I361, từ L342 đến I361, từ S343 đến I361, từ I344 đến I361, từ M345 đến I361, hoặc từ M345 đến N363, trong trình tự axit amin của PH20 kiểu đại (có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1), tốt hơn là PH20 kiểu đại thành thực (có trình tự bao gồm từ L36 đến S490 trong trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1).

Theo sáng chế, "PH20 kiểu đại thành thực" để chỉ protein bao gồm gốc axit amin từ L36 đến S490 của SEQ ID NO: 1, mà thiếu từ M1 đến T35, mà tạo thành peptit tín hiệu, và từ A491 đến L509, mà không liên quan đến chức năng đáng kể của PH20, trong trình tự axit amin của PH20 kiểu đại có trình tự của SEQ ID NO: 1.

Bảng 1. Trình tự axit amin của PH20 kiểu đại (SEQ ID NO: 1)

MGVLKFKHIFRSFVKSSGVSQIVFTLLIPCCLTLNFRAPPVIPNVPFLWAW
 NAPSEFCLGKFDEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYPYIDSITGVTV
 NGGIPQKISLQDHLKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDV
 YKNRSIELVQQQNVQLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWG
 YYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYPSIYLNTQQSP

VAATLYVRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDELVYTFGE
 TVALGASGIVIWGTLSIMRSMKSCLLLDNYMETILNPYIINVTLAAKMCSQVLCQ
 EQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFYCSC
 YSTLSCKEKADVKTDAVDVCIADGVCIDAFKPPMETEETQIFYNASPSSTLSAT
 MFIVSILFLIISVASL

Cụ thể là, biến thể PH20 hoặc mảnh của chúng được chứa trong được phẩm theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều đột biến, tốt hơn là đột biến thay thế gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm S343E, M345T, K349E, L353A, L354I, N356E, và I361T, và tốt nhất là một hoặc nhiều đột biến thay thế gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm L354I và N356E, ở PH20 kiểu đại có trình tự của SEQ ID NO: 1.

Theo sáng chế, thuật ngữ "biến thể PH20" được dự định bao gồm đột biến của một số gốc axit amin, tốt hơn là đột biến thay thế của gốc axit amin trong trình tự của PH20 kiểu đại ở người, cũng như đột biến mất mảnh của một số gốc axit amin ở đầu tận cùng N và/hoặc đầu tận cùng C cùng với đột biến thay thế của gốc axit amin này, và được sử dụng với nghĩa tương tự như cụm từ "biến thể PH20 hoặc mảnh của chúng".

Tác giả sáng chế đã xác minh biến thể PH20 mới hoặc các mảnh của chúng có hoạt tính enzym và độ ổn định nhiệt tăng so với PH20 kiểu đại có thể được tạo ra thông qua các nghiên cứu trước đó, dựa trên kết quả thử nghiệm trong đó, hoạt tính enzym và nhiệt độ kết tụ protein (Tagg) ở độ pH trung tính tăng, khi trình tự axit amin của vùng xoắn alpha 8 và vùng cầu nối giữa xoắn alpha 7 và xoắn alpha 8 của PH20 ở người được thế một phần bằng trình tự axit amin của vùng xoắn alpha 8 và vùng cầu nối giữa xoắn alpha 7 và xoắn alpha 8 của Hyal1 có tính ưa nước cao.

Do đó, biến thể PH20 được chứa trong được phẩm theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều đột biến thay thế gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm S343E, M345T, K349E, L353A, L354I, N356E, và I361T, tốt hơn là một hoặc nhiều đột biến thay thế gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm L354I và N356E, trong trình tự axit amin của PH20 kiểu đại (có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1), tốt hơn là PH20 kiểu đại thành thực (có trình tự bao gồm từ L36 đến S490 trong trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1),

trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin ở vùng này tương ứng với vùng xoắn alpha và/hoặc vùng cầu nối của chúng, tốt hơn là trong vùng xoắn alpha 8 (từ S347 đến C381) và/hoặc vùng cầu nối (từ A333 đến R346) giữa xoắn alpha 7 và xoắn alpha 8, tốt hơn nữa

là trong vùng axit amin tương ứng từ T341 đến N363, từ T341 đến I361, từ L342 đến I361, từ S343 đến I361, từ I344 đến I361, từ M345 đến I361, hoặc từ M345 đến N363, được thể.

Cụ thể là, ở biến thể PH20 được chứa trong được phẩm theo sáng chế, vùng xoắn alpha 8 (từ S347 đến C381) và/hoặc vùng cầu nối (từ A333 đến R346) của xoắn alpha 7 và xoắn alpha 8 của PH20 kiểu đại, tốt hơn là PH20 kiểu đại thành thực, có thể được thể bằng một số gốc axit amin trong trình tự axit amin của vùng tương ứng của Hyal1 có trình tự của SEQ ID NO: 51 (xem bảng 2 và 3), nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó.

Bảng 2. Trình tự axit amin của Hyal1 kiểu đại (SEQ ID NO: 51)

MAAHLLEDINHALFLTLLDMAQGFGRGPLLPNRPFTTVWNANTQWCLERHG
VDVDVSVFDVVANPGQTFRGPDMTIFYSSQLGTYPYYTPTGEPVFGGLPQNASLI
AHLARTFQDILAAIPAPDFSGLAVIDWEAWRPRWAFNWDTKDIYRQRSRALVQA
QHPDWPAPQVEAVAQDQFQGAARAWMAGTLQLGRALRPRGLWGFYGFPCDYN
YDFLSPNYTGQCPSGIRAQNDQLGWLWGQSRALYPSIYMPAVLEGTGKSQMYV
QHRVAEAFRVAVAAGDPNLPVLPYVQIFYDTTNHFLPLDELEHSLGESAAQGAA
GVVLWVSWENTRTKESCQAIKEYMDTTLGPFILNVTSGALLCSQALCSGHGRCV
RRTSHPKALLLNPAFSIQLTPGGGPLSLRGALSLEDQAQMAVEFKCRCYPGWQ
APWCERKSMW

Bảng 3. So sánh giữa xoắn alpha và trình tự axit amin của PH20 và Hyal1

Xoắn alpha	Trình tự axit amin của PH20	Trình tự axit amin của Hyal1
Xoắn alpha 1	P56 đến D65	N39 đến G48
Xoắn alpha 3	S119 đến M135	S101 đến I117
Xoắn alpha 4'	K161 đến N176	K144 đến H159
Xoắn alpha 4	S180 đến R211	P163 đến R194
Xoắn alpha 5	F239 đến S256	P222 đến S239
Xoắn alpha 6	A274 đến D293	K257 đến G277
Xoắn alpha 7	S317 đến G332	P299 đến G314
Xoắn alpha 8	S347 đến C381	T329 đến C363

Cụ thể hơn, biến thể PH20 hoặc mảnh của chúng được chứa trong dược phẩm theo sáng chế tốt hơn là bao gồm đột biến thay thế gốc axit amin của L354I và/hoặc N356E trong trình tự axit amin của PH20 kiểu đại, tốt hơn là PH20 kiểu đại thành thực,

và tốt hơn là bao gồm thêm đột biến thay thế gốc axit amin ở một hoặc nhiều vị trí được chọn từ T341 đến N363, cụ thể là ở một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm T341, L342, S343, I344, M345, S347, M348, K349, L352, L353, D355, E359, I361, và N363, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó, và

tốt hơn nữa là, bao gồm thêm một hoặc nhiều đột biến thay thế gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, D355K, E359D, I361T, và N363G, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó.

Tốt hơn là, biến thể PH20 hoặc mảnh của chúng được chứa trong dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm đột biến thay thế gốc axit amin được chọn từ M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T,

và có thể bao gồm thêm một hoặc nhiều đột biến thay thế gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm T341S, L342W, S343E, I344N, và N363G, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó.

Tốt hơn nữa là, biến thể PH20 hoặc mảnh của chúng được chứa trong dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, một đột biến thay thế bất kỳ được chọn từ các nhóm dưới đây:

(a) T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T;

(b) L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T;

(c) M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T;

(d) M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T, và N363G;

(e) I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T; và

(f) S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T.

Theo sáng chế, sự diễn đạt, được mô tả bằng mã gốc axit amin một ký tự cùng với các số, như "S347", nghĩa là gốc axit amin ở vị trí tương ứng trong trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1.

Ví dụ, "S347" nghĩa là gốc axit amin ở vị trí 347 trong trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 là serin. Ngoài ra, "S347T" nghĩa là serin ở vị trí 347 của SEQ ID NO: 1 được thế cho threonin.

Biến thể PH20 được chứa trong dược phẩm theo sáng chế được hiểu là bao gồm biến thể trong đó gốc axit amin ở vị trí gốc axit amin cụ thể được thế bảo toàn.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "thế bảo toàn" đề cập đến sự biến đổi của biến thể PH20 liên quan đến sự thay thế của một hoặc nhiều axit amin bằng các axit amin có đặc tính sinh hóa tương tự mà không làm mất chức năng sinh học hoặc sinh hóa của biến thể PH20 tương ứng.

"Sự thế axit amin bảo toàn" là hiện tượng trong đó gốc axit amin được thay thế bằng gốc axit amin có chuỗi bên tương tự. Các họ của gốc axit amin có chuỗi bên tương tự đã được xác định và đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các họ này bao gồm axit amin có chuỗi bên bazơ (ví dụ, lysin, arginin, và histidin), axit amin có chuỗi bên axit (ví dụ, axit aspartic và axit glutamic), axit amin có chuỗi bên phân cực không tích điện (ví dụ, glyxin, asparagin, glutamin, serin, threonin, tyrosin, và xystein), axit amin có chuỗi bên không phân cực (ví dụ, alanin, valin, leuxin, isoleuxin, prolin, phenylalanin, methionin, và tryptophan), axit amin có chuỗi bên phân nhánh beta (ví dụ, threonin, valin, và isoleuxin), và axit amin có chuỗi bên thơm (ví dụ, tyrosin, phenylalanin, tryptophan, và histidin).

Người ta dự đoán rằng biến thể PH20 được chứa trong dược phẩm theo sáng chế vẫn sẽ giữ hoạt tính của chúng mặc dù có sự thế axit amin bảo toàn.

Ngoài ra, biến thể PH20 hoặc mảnh của chúng được chứa trong dược phẩm theo sáng chế được hiểu là bao gồm biến thể PH20 hoặc các mảnh của chúng có cùng chức năng và/hoặc tác dụng như chức năng/tác dụng của biến thể PH20 hoặc mảnh của chúng theo sáng chế, và có sự tương đồng trình tự axit amin ít nhất là 80% hoặc 85%, tốt hơn

nếu ít nhất là 90%, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 95%, và tốt nhất nếu ít nhất là 99% với biến thể PH20 hoặc mảnh của chúng theo sáng chế.

Biến thể PH20 theo sáng chế có mức độ biểu hiện tăng ở tế bào động vật và tỷ lệ gấp lại protein tăng, nhờ đó có độ ổn định nhiệt tăng so với PH20 kiểu đại thành thực. Hơn nữa, hoạt tính enzym của biến thể PH20 vượt quá hoặc tương tự với hoạt tính enzym của PH20 kiểu đại thành thực mặc dù độ ổn định nhiệt tăng.

Trong khi đó, đã biết rằng, khi một số axit amin ở đầu tận cùng C, như S490, của PH20 kiểu đại thành thực được phân cắt bổ sung, thì hoạt tính enzym bị giảm, nhưng biến thể PH20 theo sáng chế đã cho thấy độ ổn định nhiệt tăng và hoạt tính enzym tăng hoặc tương tự so với PH20 kiểu đại thành thực mặc dù đầu tận cùng C của PH20 kiểu đại thành thực có trình tự phân cắt bổ sung. Ngoài ra, biến thể PH20 duy trì được hoạt tính enzym của chúng khi phân cắt lên đến năm gốc axit amin từ axit amin đầu tận cùng N, điều đó chỉ ra rằng các gốc khởi đầu từ P41 của đầu tận cùng N đóng vai trò quan trọng trong sự biểu hiện của protein và hoạt tính enzym.

Do đó, biến thể PH20 được chứa trong được phẩm theo sáng chế bao gồm một số đột biến thay thế gốc axit amin ở vùng xoắn alpha 8 (từ S347 đến C381) và/hoặc vùng cầu nối (từ A333 đến R346) giữa xoắn alpha 7 và xoắn alpha 8 của PH20 kiểu đại, và bao gồm thêm một số đột biến mất gốc axit amin ở đầu tận cùng C và/hoặc đầu tận cùng N, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó.

Theo một phương án, biến thể PH20 được chứa trong được phẩm theo sáng chế có thể bao gồm một số đột biến mất gốc axit amin ở đầu tận cùng N tạo thành từ sự phân cắt trước gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm từ M1 đến P42 ở đầu tận cùng N của trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1, tốt hơn là trước gốc axit amin L36, N37, F38, R39, A40, P41, hoặc P42, và/hoặc một số đột biến mất gốc axit amin ở đầu tận cùng C tạo thành từ sự phân cắt sau gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm từ V455 đến W509 ở đầu tận cùng C, tốt hơn là sau gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm từ V455 đến S490, và tốt nhất là sau gốc axit amin V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, P478, I480, Y482, A484, P486, T488, hoặc S490.

Cụm từ “sự phân cắt trước L36, N37, F38, R39, A40, P41, hoặc P42 ở đầu tận cùng N” nghĩa là, tương ứng, tất cả gốc axit amin từ M1 đến T35 ngay trước L36, tất cả

gốc axit amin từ M1 đến L36 ngay trước N37, tất cả gốc axit amin từ M1 đến N37 ngay trước F38, tất cả gốc axit amin từ M1 đến F38 ngay trước R39, tất cả gốc axit amin từ M1 đến R39 ngay trước A40, tất cả gốc axit amin từ M1 đến A40 ngay trước P41, hoặc tất cả gốc axit amin từ M1 đến P41 ngay trước P42 trong trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 được phân cắt và được loại bỏ. Cụm từ “sự phân cắt trước M1 ở đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 1” nghĩa là không có sự phân cắt xảy ra ở đầu tận cùng N.

Ngoài ra, cụm từ “sự phân cắt sau V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, P478, I480, Y482, A484, P486, T488, hoặc S490 của đầu tận cùng C” nghĩa là sự phân cắt và loại bỏ gốc axit amin sau V455, C458, D461, C464, I465, D466, A467, F468, K470, P472, M473, E474, T475, E476, P478, I480, Y482, A484, P486, T488, hoặc S490, tương ứng, trong trình tự của SEQ ID NO: 1. Ví dụ, sự phân cắt sau S490 nghĩa là sự phân cắt giữa S490 và A491.

Tốt hơn là, biến thể PH20 ở người được chứa trong được phẩm theo sáng chế có thể có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: từ 5 đến 50, tốt hơn nữa là trình tự axit amin của SEQ ID NO: 44, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó. Ở biến thể PH20 được tạo cấu trúc theo các phương án cụ thể của sáng chế, trình tự của axit amin được thể hoặc được phân cắt được thể hiện trong bảng 4 dưới đây.

Bảng 4. Trình tự axit amin của biến thể PH20 theo sáng chế và đặc tính thay thế/phân cắt của chúng

Tên	Trình tự số	Đột biến thay thế	Trình tự
HM1	5	12 axit amin được thể bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T, và N363G.	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK

			IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTL <u>SITRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTLGPYI</u> INVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM2	6	7 axit amin được thế bằng Y365F, I367L, L371S, A372G, K374L, M375L, và V379A.	LNFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVITIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDLDSWLWNESTALYP SIYLNNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTL <u>SITRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTLNP</u> <u>FIL</u> NVT <u>SGALLCS</u> <u>QALCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNF</u> AIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFY CSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIADG VCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM3	7	19 axit amin được thế bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T, N363G, Y365F,	LNFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVITIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDLDSWLWNESTALYP

		I367L, L371S, A372G, K374L, M375L, và V379A.	SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTL <u>SITRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTLGPFILNVTSGALLC</u> SQALCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM4	8	17 axit amin được thế bằng G340V, T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T, và N363G.	LNFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIW <u>VSWENTRT</u> <u>KESCQAIKEYMDTTLGPYIINVTLA</u> AKM CSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPD NFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEK FYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCI DGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM6	9	11 gốc axit amin được thế bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và	LNFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPG

		I361T.	YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTL <u>SITRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM7	10	16 axit amin được thế bằng G340V, T341S L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T.	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIW <u>VSWENTRT</u> <u>KESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKM CSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPD NFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEK FYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD DGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM8	11	12 axit amin được thế bằng I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K,	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKL

		N356E, E359D, và I361T.	GKLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTL <u>NT</u> <u>RT</u> <u>KE</u> <u>SC</u> <u>QAI</u> <u>KE</u> <u>YMD</u> <u>TT</u> LNPIINVTLAAKM CSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPD NFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEK FYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIA DGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM9	12	13 axit amin được thể bằng S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T.	LNFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTL <u>ENT</u> <u>RT</u> <u>KE</u> <u>SC</u> <u>QAI</u> <u>KE</u> <u>YMD</u> <u>TT</u> LNPIINVTLAAKM CSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPD NFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEK FYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIA DGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM10	13	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K,	LNFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV

		K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T.	QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRT</u> <u>KESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKM CSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPD NFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEK FYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCI DGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM11	14	13 gốc axit amin được thế bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T, Y365F, và I367L.	LNFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTLST <u>TRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NP <u>FIL</u> NVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM12	15	15 gốc axit amin được thế bằng M345T, S347T, M348K, K349E,	LNFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW

		L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T, Y365F, I367L, L371S, và A372G.	RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTRTK <u>ESCQAIKEYMDTTLNPFILNVTSGAKMC</u> SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM13	16	11 gốc axit amin được thể bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N.	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTRTKE <u>SCQAIKEYMDTTLN</u> PIINVTLAAKMCS QVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNF AIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFY CSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIADG VCIDAFKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM14	17	11 axit amin được thể bằng M345T, S347T, M348K,	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH

		K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện sau nhóm carboxyl của I465.	LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTRTK <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCI
HM15	18	11 axit amin được thế bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện sau nhóm carboxyl của F468.	LNFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTRTK <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAF
HM16	19	11 axit amin được thế bằng M345T,	LNFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFYVD

		S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện sau nhóm carboxyl của P471.	RLGYYPYIDSITGVTVNNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTRTK <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKP
HM17	20	Axit amin từ L36 đến V47 được thế bằng FRGPLLPNR, và 11 axit amin được thế bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T.	<u>FRGPLLPNR</u> PFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGTLSTRTKE <u>SCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMCS QVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNF AIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFY CSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIADG VCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM18	21	Axit amin từ L36	<u>FRGPLLPNRPFTTV</u> WNAWAPSEFCLGKFDE

		đến A52 được thể bằng FRGPLLPNRPFT TV, và 11 axit amin được thể bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T.	PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGTL<u>SITRTKE</u> <u>SCQAIKEYMDTTL</u>NPYIINVTLAAKMCS QVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNF AIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFY CSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIADG VCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM19	22	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc K470 ở đầu tận cùng C.	FRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGTL<u>WENTRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u>NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLK

HM20	23	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc F468 ở đầu tận cùng C.	FRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAF
HM21	24	15 gốc axit amin được thể bằng T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T.	LNFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWG <u>SWENTRT</u> <u>KESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKM CSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPD NFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEK FYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD

			DGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM24	25	11 gốc axit amin được thể bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc A40 ở đầu tận cùng N.	APPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPL DMSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRLG YYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHLDK AKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPT WARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQLS LTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGK LLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGYN GSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPSI YLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKIP DAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDEL VYTFGETVALGASGIVIWGTLSTRTKES CQAIKEYMDTTLNPIINVTLAAKMCSQ VLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNFA IQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFYC SCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIADGV CIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM25	26	11 axit amin được thể bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc P42 ở đầu tận cùng N.	PVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLD MSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRLGY YPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHLDKA KKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTW ARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQLSL TEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLGKL LRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGYNG SCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPSIYL NTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKIPD AKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDELV YTFGETVALGASGIVIWGTLSTRTKES QAIKEYMDTTLNPIINVTLAAKMCSQV LCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAI QLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFYC

			SCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIADGV CIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM29	27	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc L36 ở đầu tận cùng N và sau gốc A467 ở đầu tận cùng C.	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVITIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRT</u> <u>KESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKM CSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPD NFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEK FYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCI DGVCIDA
HM30	28	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc L36 ở đầu tận cùng N và	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVITIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRT</u> <u>KESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKM CSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPD

		sau gốc C464 ở đầu tận cùng C.	NFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEK FYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIA DGVC
HM31	29	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc L36 ở đầu tận cùng N và sau gốc D461 ở đầu tận cùng C.	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRT</u> <u>KESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKM CSQVLCQEQGVCIKKNWNSSDYLHLNPD NFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEK FYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIA D
HM32	30	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc L36 ở	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRT</u> <u>KESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKM

		đầu tận cùng N và sau gốc C458 ở đầu tận cùng C.	CSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPD NFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEK FYCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVC
HM33	31	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc L36 ở đầu tận cùng N và sau gốc V455 ở đầu tận cùng C.	LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVITIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD ELVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRT</u> <u>KESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKM CSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPD NFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEK FYCSCYSTLSCKEKADVKTDAV
HP34	32	15 gốc axit amin được thể bằng T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVITIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGS <u>WENTRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN

		sau gốc K470 ở đầu tận cùng C.	FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLK
HM35	33	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc P472 ở đầu tận cùng C.	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTR</u> <u>TK</u> <u>ESCQAIKEYMD</u> <u>DT</u> TLNPIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPP
HM36	34	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTR</u> <u>TK</u> <u>ESCQAIKEYMD</u> <u>DT</u> TLNPIINVTLAAKMC

		đầu tận cùng N và sau gốc M473 ở đầu tận cùng C.	SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPM
HM37	35	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc E474 ở đầu tận cùng C.	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPME
HM38	36	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTK</u>

		trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc T475 ở đầu tận cùng C.	<u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMET
HM39	37	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc E476 ở đầu tận cùng C.	FRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETE
HM40	38	11 gốc axit amin được thể bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc N37 ở	NFRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKF DEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVD RLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDH LDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEW RPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNV QLSLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKL GKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPG YNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYP SIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSK IPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQD

		đầu tận cùng N.	ELVYTFGETVALGASGIVIWGTL <u>SITR</u> <u>TK</u> <u>ESCQAIKEYMD</u> <u>TTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM41	39	11 gốc axit amin được thế bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc R39 ở đầu tận cùng N.	RAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKFDEP LDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHLD KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGTL <u>SITR</u> <u>TKE</u> <u>SCQAIKEYMD</u> <u>TTL</u> NPYIINVTLAAKMCS QVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNF AIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFY CSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIADG VCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM42	40	11 gốc axit amin được thế bằng M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện	PPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLD MSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRLGY YPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHLDKA KKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTW ARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQLSL TEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKLGKL LRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGYNG SCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPSIYL NTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKIPD

		trước gốc P41 ở đầu tận cùng N.	AKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDELV YTFGETVALGASGIVIWGTLSTRT KESC QAIKEYMDTTL NPYIINVTLAAKMCSQV LCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAI QLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFYC SCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIADGV CIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS
HM43	41	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc I465 ở đầu tận cùng C.	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGS WENTRTK ESCQAIKEYMDTTL NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCI
HM44	42	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E,	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS

		E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc D466 ở đầu tận cùng C.	IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGS <u>WENTRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCID
HM45	43	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc A467 ở đầu tận cùng C.	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGS <u>WENTRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDA
HP46	44	15 gốc axit amin được thể bằng T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A,	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY

		L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc F468 ở đầu tận cùng C.	NGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWG <u>SWENTRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAF
HM47	45	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc P478 ở đầu tận cùng C.	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWG <u>TWENTRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAF LKPPMETEEP
HM48	46	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q,	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLG

		L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc I480 ở đầu tận cùng C.	KLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTK</u> <u>ESCOAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETEETEPQI
HM49	47	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc Y482 ở đầu tận cùng C.	FRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNNGGIPQKISLQDHLD KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTK</u> <u>ESCOAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETEETEPQIFY
HM50	48	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K,	FRAPPVIPNPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNNGGIPQKISLQDHLD KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL

		K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc A484 ở đầu tận cùng C.	SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGT WENTRTK ESCQAIKEYMDTTL NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETEETEPQIFYNA
HM51	49	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc P486 ở đầu tận cùng C.	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDLWSLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGT WENTRTK ESCQAIKEYMDTTL NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETEETEPQIFYNASP
HM52	50	14 gốc axit amin được thể bằng L342W, S343E, I344N, M345T,	FRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDE PLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTFIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHL KAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRP

		S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T, và sự phân cắt được thực hiện trước gốc F38 ở đầu tận cùng N và sau gốc T488 ở đầu tận cùng C.	TWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQL SLTEATEKAKQEFEEKAGKDFLVETIKLG KLLRPNHLWGYLFPDCYNHHYKKPGY NGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPS IYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKI PDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDE LVYTFGETVALGASGIVIWGT <u>WENTRTK</u> <u>ESCQAIKEYMDTTL</u> NPYIINVTLAAKMC SQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYHLNPDN FAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKF YCSCYSTLSCKEKADVKTDAVDVCIAD GVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPST
--	--	---	--

Trong khi đó, các nghiên cứu trước đó đã báo cáo rằng hoạt tính enzym của PH20 kiểu đại thay đổi tùy thuộc vào các vị trí phân cắt của gốc axit amin nằm ở đầu tận cùng C. Tuy nhiên, theo sáng chế, xoắn alpha cụ thể tạo thành cấu trúc bậc hai của PH20 được thể bằng xoắn alpha của hyaluronidaza khác ở người, nhờ đó cấu trúc biến thể PH20 có độ ổn định cao hơn PH20 kiểu đại, và trong các biến thể này, tương tác giữa miền xoắn alpha được thể và các cấu trúc bậc hai khác của PH20 thể hiện mô hình khác với mô hình của PH20 kiểu đại, sao cho biến thể có hoạt tính enzym ở mức độ nhất định hoặc cao hơn, bất kể vị trí phân cắt ở đầu tận cùng C.

Ngoài ra, theo sáng chế, các nỗ lực được thực hiện để làm tăng sự biểu hiện của protein PH20 tái tổ hợp bằng cách sử dụng peptit tín hiệu của các protein khác thể hiện mức độ biểu hiện của protein cao ở tế bào động vật, thay cho peptit tín hiệu ban đầu của PH20 ở người.

Do đó, theo một phương án khác, biến thể PH20 được bao gồm trong dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm, ở đầu tận cùng N của chúng, peptit tín hiệu bắt nguồn từ hyaluronidaza-1 (Hyal1) ở người, hormon sinh trưởng của người, hoặc albumin huyết thanh người, thay cho peptit tín hiệu của PH20 kiểu đại, bao gồm từ M1 đến T35, và tốt hơn là có thể bao gồm, như được thể hiện trong Bảng 5, peptit tín hiệu bắt nguồn từ hormon sinh trưởng của người có trình tự axit amin là MATGSRTSLLLAFLGLLCLPWLQEGSA theo SEQ ID NO: 2, peptit tín hiệu bắt nguồn

từ albumin huyết thanh người có trình tự axit amin là MKWVTFISLLFLFSSAYS theo SEQ ID NO: 3, hoặc peptit tín hiệu bắt nguồn từ Hyal1 ở người có trình tự axit amin là MAAHLLPICALFLTLLDMAQG theo SEQ ID NO: 4, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó.

Bảng 5. Trình tự axit amin của peptit tín hiệu của hormon sinh trưởng của người, albumin huyết thanh người, hoặc Hyal1 ở người

Nguồn gốc của peptit tín hiệu	Trình tự axit amin	SEQ ID NO:
Hormon sinh trưởng của người	MATGSRTSLLLAFLGLCLPWLQEGSA	2
Albumin huyết thanh người	MKWVTFISLLFLFSSAYS	3
Hyal1 ở người	MAAHLLPICALFLTLLDMAQG	4

Trong số các biến thể PH20 được bao gồm trong dược phẩm theo sáng chế, biến thể có đuôi 6xHis được gắn với đầu cùng C được đặt tên là HM, và biến thể không có đuôi 6xHis được đặt tên là HP. Ngoài ra, PH20 kiểu đại thành thực (L36-S490) với đuôi 6xHis được gắn với đầu cùng C của chúng được đặt tên là WT, và PH20 kiểu đại thành thực (từ L36 đến Y482) không có đuôi 6xHis và trong đó đầu cùng C được phân cắt sau Y482 được đặt tên là HW2.

HP46 (SEQ ID NO: 44) là biến thể PH20 ở người thu được bằng cách tạo mô hình cấu trúc protein bằng cách sử dụng Hyal1 (PDB ID: 2PE4) (Chao et al., 2007), là hyaluronidaza ở người, với cấu trúc protein bậc ba đã biết, và sau đó thế trình tự axit amin của axit amin của xoắn alpha 8 và vùng cầu nối giữa xoắn alpha 7 và xoắn alpha 8 với trình tự axit amin của Hyal1, và đưa đầu cùng N vào phân cắt ở F38 và đưa đầu cùng C vào phân cắt sau F468. Cụ thể là, xoắn alpha 8 nằm ngoài cấu trúc protein bậc ba của PH20 và có ít tương tác với các xoắn alpha hoặc các sợi beta lân cận hơn là các xoắn alpha khác. Nhìn chung, hoạt tính enzym và độ ổn định nhiệt có mối quan hệ cân bằng giữa chúng, và do đó độ ổn định nhiệt của protein cao hơn, hoạt tính enzym thấp hơn, trong khi đó, khi hoạt tính enzym được tăng lên do sự cải thiện về độ linh hoạt của cấu trúc protein, độ ổn định nhiệt có xu hướng giảm. Tuy nhiên, hoạt tính cụ thể của HP46,

được đo bằng thử nghiệm đo độ đục ở độ pH 7,0, là khoảng 46 đơn vị/ μ g, được đánh giá là cao gấp khoảng hai lần hoạt tính của PH20 kiểu đại, là khoảng 23 đơn vị/ μ g.

Độ ổn định nhiệt của protein có thể được đánh giá dựa trên nhiệt độ nóng chảy T_m , mà tại đó 50% cấu trúc protein bậc ba bị biến tính, và dựa trên nhiệt độ kết tụ T_{agg} , mà tại đó sự kết tụ giữa các protein xảy ra. Nhìn chung, nhiệt độ kết tụ của protein có xu hướng thấp hơn nhiệt độ nóng chảy của chúng. Xoắn alpha 8 của Hyal1 thể hiện tính ưa nước tốt hơn xoắn alpha 8 của PH20. Xoắn alpha 8 được thế của Hyal1 tăng tính ưa nước bề mặt protein của HP46, nhờ đó gây ra tác dụng làm chậm sự kết tụ giữa các protein mà xảy ra do tương tác kỵ nước, và do đó nhiệt độ kết tụ là 51°C, mà được quan sát thấy là tăng 4,5°C so với nhiệt độ kết tụ của PH20 kiểu đại, là 46,5°C.

HP46 là biến thể trong đó gốc axit amin ở xoắn alpha 8 và vùng cầu nối giữa xoắn alpha 7 và xoắn alpha 8 được thế, trong đó T341 được thế bằng serin. Khi gốc axit amin 341 là threonin, hoạt tính enzym tương tự với hoạt tính enzym của PH20 kiểu đại, nhưng khi thay thế bằng serin, hoạt tính enzym được tăng lên khoảng 2 lần, và đã xác nhận được rằng, ngay cả trong thử nghiệm gel chất nền, biến thể thu được thủy phân axit hyaluronic nhiều hơn từ 5 đến 6 lần so với PH20 kiểu đại. Thử nghiệm gel chất nền bao gồm quá trình biến tính và gấp lại của protein, nghĩa là quá trình gấp lại cấu trúc protein bậc ba và phục hồi HP46 được tăng cường so với PH20 kiểu đại.

Lượng biến thể PH20 trong dược phẩm theo sáng chế là ít nhất 50 đơn vị/mL, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 100 đơn vị/mL đến 20.000 đơn vị/mL, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 150 đơn vị/mL đến khoảng 18.000 đơn vị/mL, còn tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1.000 đơn vị/mL đến 16.000 đơn vị/mL, và tốt nhất là nằm trong khoảng từ 1.500 đơn vị/mL đến 12.000 đơn vị/mL.

Ví dụ về dược chất được bao gồm trong dược phẩm theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dược chất protein, dược chất kháng thể, phân tử nhỏ, aptame, ARNi (can thiệp ARN), phân tử đối nghĩa, và chất trị liệu tế bào như thụ thể kháng nguyên khảm (chimeric antigen receptor - CAR)-T hoặc CAR tiêu diệt tự nhiên (NK), và có thể sử dụng không chỉ dược chất có sẵn trên thị trường hiện nay mà còn dược chất trong các thử nghiệm lâm sàng hoặc đang phát triển.

Đối với dược chất, tốt hơn là dược chất protein hoặc dược chất kháng thể có thể được sử dụng.

“Dược chất protein” được bao gồm trong dược phẩm theo sáng chế là dược chất bao gồm axit amin, và do đó thể hiện tác dụng điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh thông qua hoạt tính của protein, là dược chất bao gồm protein ngoài dược chất kháng thể, và có thể được chọn từ nhóm bao gồm xytokin, enzym trị liệu, hormon, thụ thể hòa tan và protein dung hợp của chúng, insulin hoặc chất tương tự của chúng, protein tạo hình xương (BMP-bone morphogenetic protein), erythropoietin, và protein bắt nguồn từ huyết thanh, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó.

Xytokin được bao gồm trong dược phẩm theo sáng chế có thể được chọn từ nhóm bao gồm interferon, interleukin, yếu tố kích thích tạo dòng (CSF-colony-stimulating factor), yếu tố gây hoại tử khối u (TNF-tumor necrosis factor), và yếu tố sinh trưởng mô (TGF-tissue growth factor), nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó.

Enzym trị liệu có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, β -glucocerebrosidaza và agalsidaza β .

Thụ thể hòa tan được bao gồm trong dược phẩm theo sáng chế là miễn ngoại bào của thụ thể, và protein dung hợp của chúng là protein trong đó vùng Fc hoặc vùng tương tự của kháng thể được dung hợp với thụ thể hòa tan. Thụ thể hòa tan là dạng hòa tan của thụ thể mà liên kết với phối tử liên quan đến bệnh, và các ví dụ về chúng bao gồm dạng trong đó vùng Fc được dung hợp với thụ thể hòa tan TNF- α (ví dụ, sản phẩm chứa thành phần etanercept và các dạng tương tự như vậy), dạng trong đó vùng Fc được dung hợp với thụ thể hòa tan VEGF (sản phẩm chứa thành phần alefacept và các dạng tương tự như vậy), dạng trong đó vùng Fc được dung hợp với CTLA-4 (ví dụ, sản phẩm chứa thành phần abatacept hoặc belatacept và các dạng tương tự như vậy), dạng trong đó vùng Fc được dung hợp với thụ thể hòa tan interleukin 1 (ví dụ, sản phẩm chứa thành phần rilonacept và các dạng tương tự như vậy), và dạng trong đó vùng Fc được dung hợp với thụ thể hòa tan LFA3 (ví dụ, sản phẩm chứa thành phần alefacept và các dạng tương tự như vậy), nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó.

Hormon được bao gồm trong dược phẩm theo sáng chế đề cập đến hormon được tiêm vào trong cơ thể hoặc dạng tương tự của chúng để điều trị hoặc ngăn ngừa các bệnh gây ra do sự thiếu hụt hormon và tương tự, và các ví dụ về chúng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hormon sinh trưởng của người, estrogen, và progesteron.

Protein bắt nguồn từ huyết thanh được bao gồm trong dược phẩm theo sáng chế là protein có mặt trong huyết tương, và bao gồm cả các protein được chiết xuất từ huyết tương và tạo ra protein tái tổ hợp, và các ví dụ về chúng có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, fibrinogen, yếu tố von Willebrand, albumin, thrombin, yếu tố II (FII), yếu tố V (FV), yếu tố VII (FVII), yếu tố IX (FIX), yếu tố X (FX), và yếu tố XI (FXI).

Dược chất kháng thể được bao gồm trong dược phẩm theo sáng chế có thể là dược chất kháng thể đơn dòng hoặc dược chất kháng thể đa dòng.

Dược chất kháng thể đơn dòng theo sáng chế là protein chứa kháng thể đơn dòng và mảnh kháng thể đơn dòng mà có khả năng liên kết đặc hiệu với kháng nguyên liên quan đến bệnh cụ thể. Kháng thể đơn dòng cũng bao gồm kháng thể đặc hiệu kép, và protein chứa kháng thể đơn dòng hoặc mảnh của chúng về mặt khái niệm bao gồm liên hợp kháng thể-dược chất (ADC-antibody-drug conjugate).

Ví dụ về kháng nguyên liên quan đến bệnh cụ thể bao gồm 4-1BB, integrin, amyloid beta, angiopoietin (angiopoietin 1 hoặc 2), chất tương tự angiopoietin 3, yếu tố hoạt hóa tế bào B (BAFF), B7-H3, bổ thể 5, CCR4, CD3, CD4, CD6, CD11a, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD38, CD52, CD62, CD79b, CD80, CGRP, Claudin-18, yếu tố bổ thể D, CTLA4, DLL3, thụ thể EGF, yếu tố ưa chảy máu, thụ thể Fc, FGF23, thụ thể folat, GD2, GM-CSF, HER2, HER3, thụ thể interferon, interferon gamma, IgE, thụ thể IGF-1, interleukin 1, thụ thể interleukin 2, thụ thể interleukin 4, interleukin 5, thụ thể interleukin 5, interleukin 6, thụ thể interleukin 6, interleukin 7, interleukin 12/23, interleukin 13, interleukin 17A, thụ thể A interleukin 17, thụ thể interleukin 31, thụ thể interleukin 36, LAG3, LFA3, NGF, PVSX9, PD-1, PD-L1, RANK-L, SLAMF7, yếu tố mô, TNF, VEGF, thụ thể VEGF, và yếu tố von Willebrand (vWF), nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó.

Sau đây là, nhưng không giới hạn ở, các protein bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh kháng thể đơn dòng kháng kháng nguyên liên quan đến bệnh cụ thể:

utomilumab là kháng thể kháng 4-1BB;

natalizumab, etrolizumab, vedolizumab, và bimagrumab là kháng thể kháng integrin;

bapineuzumab, crenezumab, solanezumab, aducanumab, và gantenerumab là kháng thể kháng amyloid beta;

kháng thể kháng angiopoietin như AMG780 kháng angiopoietin 1 và 2, MEDI 3617 và nesvacumab kháng angiopoietin 2, và vanucizumab mà kháng thể đặc hiệu kép kháng angiopoietin 2 và VEGF;

evinacumab là kháng thể kháng chất tương tự angiopoietin 3;

tabalumab, lanalumab, và belimumab là kháng thể kháng yếu tố hoạt hóa tế bào B (BAFF);

omburtamab là kháng thể kháng B7-H3;

ravulizumab và eculizumab là kháng thể kháng bổ thể 5;

mogamulizumab là kháng thể kháng CCR4;

otelixizumab, teplizumab, và muromonab là kháng thể kháng CD3, tebentafusp là kháng thể đặc hiệu kép kháng GP100 và CD3, blinatumomab là kháng thể đặc hiệu kép kháng CD19 và CD3, và REGN1979 là kháng thể đặc hiệu kép kháng CD20 và CD3;

ibalizumab và zanolimumab là kháng thể kháng CD4;

itolizumab là kháng thể kháng CD6;

efalizumab là kháng thể kháng CD11a;

inebilizumab, tafasitamab, và loncastuximab tesirin là ADC, là kháng thể kháng CD19;

ocrelizumab, ublituximab, obinutuzumab, ofatumumab, rituximab, tositumomab, và ibritumomab tiuxetan là ADC, là kháng thể kháng CD20;

epratuzumab, inotuzumab ozogamixin là ADC, và moxetumomab pasudotox là kháng thể kháng CD22;

brentuximab vedotin là ADC kháng CD30;

vadastuximab talirin và gemtuzumab ozogamixin là các ADC kháng CD33;

daratumumab và isatuximab là kháng thể kháng CD38;

alemtuzumab là kháng thể kháng CD52;

crizanlizumab là kháng thể kháng CD62;

polaruzumab vedotin là ADC kháng CD79b;

galiximab là kháng thể kháng CD80;

eptinezumab, fremanezumab, galcanezumab, và erenumab là kháng thể kháng CGRP;

zolbetuximab là kháng thể kháng Claudin-18;

lampalizumab là kháng thể kháng yếu tố bỏ thể D;
 tremelimumab, zalifrelimab, và ipilimumab là kháng thể kháng CTLA4;
 rovalpituzumab tesirin là ADC kháng DLL3;
 cetuximab, depatuxizumab, zalutumumab, necitumumab, và panitumumab là
 kháng thể kháng thụ thể EGF;
 cetuximab, depatuxizumab, zalutumumab, necitumumab, và panitumumab là
 kháng thể kháng thụ thể EGF;
 nipocalimab và rozanolixizumab là kháng thể kháng thụ thể Fc;
 burosumab là kháng thể kháng FGF23;
 farletuzumab là kháng thể kháng thụ thể folat và mirvetuximab soravtansine là
 ADC kháng thụ thể folat;
 dinutuximab và naxitamab là kháng thể kháng GD2;
 otilimab là kháng thể kháng GM-CSF;
 margetuximab, pertuzumab, và trastuzumab là kháng thể kháng HER2, và
 trastuzumab deruxtecan, trastuzumab emtansine, và trastuzumab duocarmazine là các
 ADC kháng HER2;
 patritumab là kháng thể kháng HER3;
 anifrolumab là kháng thể kháng thụ thể interferon;
 emapalumab là kháng thể kháng interferon gamma;
 ligelizumab và omalizumab là kháng thể kháng IgE;
 dalotuzumab, figitumumab, và teprotumumab là kháng thể kháng thụ thể IGF-1;
 gebokizumab và canakinumab là kháng thể kháng interleukin 1;
 daclizumab và basiliximab là kháng thể kháng thụ thể interleukin 2;
 dupilumab là kháng thể kháng thụ thể interleukin 4;
 mepolizumab và reslizumab là kháng thể kháng interleukin 5;
 benralizumab là kháng thể kháng thụ thể interleukin 5;
 clazakizumab, olokizumab, sirukumab, và siltuximab là kháng thể kháng
 interleukin 6;
 sarilumab, satralizumab, tocilizumab, và REGN88 là kháng thể kháng thụ thể
 interleukin 6;
 secukinumab là kháng thể kháng interleukin 7;

ustekinumab và briakinumab là kháng thể kháng interleukin 12/23;
 lebrikizumab và tralokinumab là kháng thể kháng interleukin 13;
 ixekizumab và bimekizumab là kháng thể kháng interleukin 17A;
 brodalumab là kháng thể kháng thụ thể A interleukin 17;
 brazikumab, guselkumab, risankizumab, tildrakizumab, và mirikizumab là kháng thể kháng interleukin 23;
 nemolizumab là kháng thể kháng thụ thể interleukin 31;
 spesolimab là kháng thể kháng thụ thể interleukin 36;
 relatlimab là kháng thể kháng LAG3;
 narsoplimab là kháng thể kháng NASP2;
 fasinumab và tanezumab là kháng thể kháng NGF;
 alirocumab, evolocumab, và bococizumab là kháng thể kháng PVSK9;
 lambrolizumab, balstilimab, camrelizumab, cemiplimab, dostarlimab, prolgolimab, shintilimab, spartalizumab, tislelizumab, pembrolizumab, và nivolumab là kháng thể kháng PD-1;
 atezolizumab, avelumab, envafolimab, và durvalumab là kháng thể kháng PD-L1, và bintrafusp alpha là kháng thể đặc hiệu kép kháng TGF beta và PD-L1;
 denosumab là kháng thể kháng RANK-L;
 elotuzumab là kháng thể kháng SLAMF7;
 concizumab và marstacimab là kháng thể kháng yếu tố mô;
 kháng thể kháng TNF, cụ thể là TNF α , bao gồm infliximab, adalimumab, golimumab, mảnh kháng thể certolizumab pegol, và ozoralizumab mà kháng thể đặc hiệu kép kháng TNF và albumin;
 kháng thể kháng VEGF, bao gồm brolucizumab, ranibizumab, bevacizumab, và faricimab mà kháng thể đặc hiệu kép kháng VEGF và Ang2;
 ramucirumab là kháng thể kháng thụ thể VEGF; và
 caplacizumab là kháng thể kháng vWF.

Trong khi đó, sự biểu hiện quá mức của thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu mô ở người 2 (HER2-human epidermal growth factor receptor 2), mà khởi động quá trình phân chia tế bào, được quan sát thấy trong khoảng 20-25% bệnh nhân ung thư vú, và ung thư vú biểu hiện quá mức HER2 tiến triển nhanh, mạnh, và có phản ứng chậm với liệu pháp

hóa học so với ung thư vú biểu hiện thấp HER2, và do đó sự tiên lượng của chúng không thuận lợi. Trastuzumab, là dược chất kháng thể đơn dòng hướng đích HER2, liên kết đặc hiệu với HER2 trên bề mặt của tế bào ung thư biểu hiện quá mức HER2 để ức chế sự tải nạp tín hiệu của quá trình sao chép và tăng sinh tế bào, nhờ đó làm chậm sự tiến triển khối u. Trastuzumab được thông qua bởi Cơ quan quản lý dược phẩm và thực phẩm Mỹ (FDA-the United States Food and Drug Administration) năm 1998 đối với điều trị ung thư vú ở Mỹ, và năm 2003 bởi Cơ quan quản lý dược và thực phẩm Hàn Quốc (KFDA-the Korea Food and Drug Administration). Sau đó, hiệu lực của trastuzumab cũng được công nhận ở bệnh ung thư dạ dày biểu hiện quá mức HER2, và do đó đã được sử dụng làm chất trị liệu cho bệnh ung thư dạ dày.

Chế phẩm tiêm trong tĩnh mạch Roche's Herceptin (tên thương mại: Herceptin) chứa 440 mg trastuzumab làm thành phần chính, và trastuzumab đông khô được trộn với nước muối sinh lý và được tiêm vào tĩnh mạch. Mặc khác, chế phẩm tiêm dưới da trastuzumab (tên thương mại: Herceptin SC) là 5 mL chế phẩm lỏng, và chứa 600 mg (120 mg/mL) trastuzumab làm thành phần chính, và bao gồm, dưới dạng chất phụ gia, histidin 20 mM (độ pH 5,5), trehaloza 210 mM, methionin 10mM, polysorbat 20 0,04%, và 10.000 đơn vị của rHuPH20 (2.000 đơn vị/mL, 0,004%, 40 µg/mL).

Hạn sử dụng của chế phẩm tiêm dưới da Herceptin là 21 tháng. Chế phẩm tiêm trong tĩnh mạch trastuzumab là ở dạng đông khô và có hạn sử dụng 30 tháng, nhưng chế phẩm tiêm dưới da trastuzumab là ở trạng thái lỏng và có hạn sử dụng ngắn 21 tháng. Vì lý do này, người ta có thể ước tính rằng độ ổn định của một hoặc nhiều trastuzumab và tái tổ hợp hyaluronidaza PH20 ở người trong chế phẩm lỏng bị hạn chế.

Trong ngữ cảnh này, theo sáng chế, xét đến các đặc điểm của biến thể PH20 theo sáng chế, trong đó, so với hyaluronidaza PH20 kiểu đại ở người và PH20 tái tổ hợp ở người có sẵn từ Halozyme, biến thể PH20 không chỉ có hoạt tính enzym tăng mà còn có nhiệt độ kết tụ protein đo được cao, do đó thể hiện độ ổn định nhiệt được tăng cường, hạn sử dụng của chế phẩm tiêm dưới da được thiết lập trong khoảng thời gian dài, tốt hơn là 21 tháng hoặc lâu hơn.

Hàm lượng của dược chất kháng thể trong dược phẩm theo sáng chế có thể nằm trong khoảng từ 5 mg/mL đến 500 mg/mL, tốt hơn là từ 20 mg/mL đến 200 mg/mL, tốt

hơn nữa là từ 100 mg/mL đến 150 mg/mL, và tốt nhất là 120 ± 18 mg/mL, ví dụ, khoảng 110 mg/mL, khoảng 120 mg/mL, hoặc khoảng 130 mg/mL.

Kháng thể đa dòng được bao gồm trong dược phẩm theo sáng chế tốt hơn là kháng thể huyết thanh được chiết xuất từ huyết thanh như globulin miễn dịch, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Trong trường hợp hợp chất phân tử nhỏ, dược chất bất kỳ cần có tác dụng nhanh để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh có thể được sử dụng không giới hạn. Ví dụ, dược chất giảm đau gốc morphin có thể được sử dụng (Thomas et al., 2009). Ngoài ra, khi dược chất được sử dụng làm chất trị liệu đối với hoại tử mô gây ra bởi dược chất chống ung thư, hợp chất phân tử nhỏ có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với dược chất giải độc như alkaloit từ dừa cạn và taxan (Kreidieh et al., 2016).

Dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm thêm một hoặc nhiều chất được chọn từ nhóm bao gồm chất đệm, chất ổn định, và chất hoạt động bề mặt.

Chất đệm được bao gồm trong chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng không giới hạn, miễn là nó cho phép đạt được độ pH từ 4 đến 8, tốt hơn là từ 5 đến 7, và chất đệm này tốt hơn là một hoặc nhiều chất được chọn từ nhóm bao gồm malat, format, xitrat, axetat, propionat, pyridin, piperazin, cacodylat, suxinat, axit 2-(*N*-morpholino)etansulfonic (MES), histidin, Tris, bis-Tris, phosphat, etanolamin, cacbonat, piperazin-*N,N'*-bis(axit 2-etansulfonic) (PIPES), imidazol, BIS-TRIS propan, axit *N,N*-bis(2-hydroxyetyl)-2-aminoetansulfonic (BES), axit 3-(*N*-morpholino) propansulfonic (MOPS), axit hydroxyetyl piperazin etan sulfonic (HEPES), pyrophosphat, và trietanolamin, tốt hơn nữa là chất đệm histidin, ví dụ, L-histidin/HCl, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Nồng độ chất đệm có thể nằm trong khoảng từ 0,001 mM đến 200 mM, tốt hơn là từ 1 mM đến 50 mM, tốt hơn nữa là từ 5 mM đến 40 mM, và tốt nhất là từ 10 mM đến 30 mM.

Chất ổn định trong chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng không giới hạn, miễn là chúng được sử dụng phổ biến trong lĩnh vực kỹ thuật này nhằm mục đích ổn định các protein, và tốt hơn là chất ổn định có thể là, ví dụ, một hoặc nhiều chất được chọn từ nhóm bao gồm hydrat cacbon, đường hoặc hydrat của chúng, rượu đường hoặc hydrat của chúng, và axit amin.

Hydrat cacbon, đường, hoặc rượu đường được sử dụng như chất ổn định có thể là một hoặc nhiều chất được chọn từ nhóm bao gồm trehaloza hoặc hydrat của chúng, sucroza, sacarin, glyxerol, erythritol, threitol, xylitol, arabitol, ribitol, mannitol, sorbitol, galactitol, fucitol, iditol, inositol, volemitol, isomalt, maltitol, polyglycitol, xyclodextrin, hydroxylpropyl xyclodextrin, và glucoza, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Axit amin có thể là một hoặc nhiều chất được chọn từ nhóm bao gồm glutamin, axit glutamic, glyxin, lysin, lysilysin, leuxin, methionin, valin, serin, selenomethionin, citrulin, arginin, asparagin, axit aspartic, ornithin, isoleuxin, taurin, theanin, threonin, tryptophan, tyrosin, phenylalanin, prolin, pyrrolysin, histidin, và alanin, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Nồng độ đường hoặc rượu đường được sử dụng như chất ổn định trong dược phẩm theo sáng chế có thể nằm trong khoảng từ 0,001 mM đến 500 mM, tốt hơn là từ 100 mM đến 300 mM, tốt hơn nữa là từ 150 mM đến 250 mM, và tốt nhất là từ 180 mM đến 230 mM, và cụ thể là có thể là khoảng 210 mM.

Ngoài ra, nồng độ axit amin được sử dụng như chất ổn định trong dược phẩm theo sáng chế có thể trong khoảng từ 1 mM đến 100 mM, tốt hơn là từ 3 mM đến 30 mM, tốt hơn nữa là từ 5 mM đến 25 mM, và tốt nhất là từ 7 mM đến 20 mM, và cụ thể là, có thể nằm trong khoảng từ 8 mM đến 15 mM.

Dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm thêm chất hoạt động bề mặt.

Tốt hơn là, chất hoạt động bề mặt có thể là chất hoạt động bề mặt không ion như este của axit béo polyoxyetylen sorbitan (polysorbat hoặc Tween), polyetylen-polypropylen glycol, polyoxyetylen-stearat, polyoxyetylen alkyl ete, ví dụ, polyoxyetylen monolauryl ete, alkylphenyl polyoxyetylen ete [Triton-X], và copolyme polyoxyetylen-polyoxypropylen [Poloxamer và Pluronic], và natri dodecyl sulfat (SDS), nhưng không bị giới hạn ở đó.

Tốt hơn nữa là, polysorbat có thể được sử dụng. Polysorbat có thể là polysorbat 20 hoặc polysorbat 80, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Nồng độ chất hoạt động bề mặt không ion trong dược phẩm theo sáng chế có thể nằm trong khoảng từ 0,0000001% (khối lượng/thể tích) đến 0,5% (khối lượng/thể tích), tốt hơn là từ 0,000001% (khối lượng/thể tích) đến 0,4% (khối lượng/thể tích), tốt hơn nữa

là từ 0,00001% (khối lượng/thể tích) đến 0,3% (khối lượng/thể tích), và tốt nhất là từ 0,001% (khối lượng/thể tích) đến 0,2% (khối lượng/thể tích).

Theo một phương án, dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm từ 50 đến 350 mg/mL kháng thể, ví dụ, kháng thể kháng-HER2 hoặc kháng thể điểm kiểm soát miễn dịch, chất đệm histidin tạo độ pH $5,5 \pm 2,0$, α, α -trehaloza từ 10 đến 400 mM, methionin từ 1 đến 50 mM, và từ 0,0000001% (khối lượng/thể tích) đến 0,5% (khối lượng/thể tích) polysorbat.

Theo một phương án cụ thể hơn, dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm 120 mg/mL kháng thể kháng HER2 hoặc kháng thể điểm kiểm soát miễn dịch, chất đệm histidin 20 mM tạo ra độ pH $5,5 \pm 2,0$, α, α -trehaloza 210 mM, methionin 10mM, và 2.000 đơn vị/mL của biến thể PH20, và có thể bao gồm thêm từ 0,005% (khối lượng/thể tích) đến 0,1% (khối lượng/thể tích) polysorbat.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng qua đường tiêm trong tĩnh mạch, tiêm dưới da, tiêm trong cơ, tiêm trong màng bụng, dùng nội mô, dùng tại chỗ, dùng trong mũi, dùng trong phổi, dùng trong bàng quang, và đường dùng tương tự, và tốt hơn là việc dùng dưới da được thực hiện qua đường tiêm dưới da, và tốt hơn nữa là sử dụng dược phẩm làm chế phẩm tiêm để tiêm dưới da.

Do đó, một phương án khác của sáng chế đề xuất chế phẩm bao gồm dược phẩm theo sáng chế, tốt hơn là chế phẩm tiêm để tiêm dưới da.

Chế phẩm tiêm để tiêm dưới da có thể được đề xuất ở dạng sẵn để tiêm mà không cần quy trình pha loãng bổ sung, và có thể được cung cấp sau khi được chứa trong xylanh chứa sẵn dược chất, ống thuốc tiêm thủy tinh, hoặc vật chứa bằng nhựa.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh bằng cách sử dụng dược phẩm hoặc chế phẩm theo sáng chế.

Bệnh có thể được điều trị bằng cách sử dụng dược phẩm hoặc chế phẩm theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể, và không có giới hạn đối với bệnh, miễn là nó là bệnh có thể được điều trị với dược chất được sử dụng kết hợp với biến thể PH20 theo sáng chế.

Bệnh có thể được điều trị bằng cách sử dụng dược phẩm hoặc chế phẩm theo sáng chế có thể là bệnh ung thư hoặc bệnh tự miễn, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Bệnh ung thư hoặc ung thư biểu mô có thể điều trị được với dược phẩm hoặc chế phẩm theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể, và bao gồm cả bệnh ung thư thể rắn và bệnh

ung thư máu. Ví dụ về các bệnh ung thư này bao gồm bệnh ung thư da như bệnh ung thư hắc tố, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư phế quản, bệnh ung thư vòm họng, bệnh ung thư thanh quản, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư đại trực tràng, bệnh ung thư đại tràng, bệnh ung thư cổ tử cung, bệnh ung thư não, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư xương, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư tuyến cận giáp, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư đường mật, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư đầu và cổ, bệnh ung thư cổ tử cung, bệnh ung thư niệu quản, sacom xương, u nguyên bào thần kinh, sacom sợi, sacom cơ vân, bệnh ung thư não tế bào hình sao, u nguyên bào thần kinh, và u thần kinh đệm, nhưng không bị giới hạn ở đó. Tốt hơn là, bệnh ung thư có thể được điều trị bằng cách sử dụng dược phẩm hoặc chế phẩm của sáng chế có thể được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư đại trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư phổi, và bệnh ung thư thận, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Bệnh tự miễn có thể điều trị được với dược phẩm hoặc chế phẩm theo sáng chế bao gồm bệnh viêm đa khớp dạng thấp, bệnh hen, bệnh vẩy nến, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh viêm mũi dị ứng, bệnh Crohn, bệnh viêm loét đại tràng, bệnh lupus ban đỏ hệ thống, bệnh đái tháo đường typ I, bệnh viêm đường ruột (IBD-inflammatory bowel disease), và bệnh viêm da cơ địa, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh bao gồm việc dùng dược phẩm hoặc chế phẩm theo sáng chế cho đối tượng cần được điều trị, và sáng chế còn mô tả việc sử dụng dược phẩm hoặc chế phẩm theo sáng chế để điều trị bệnh.

Trừ khi được định nghĩa khác ở đây, các thuật ngữ kỹ thuật và thuật ngữ khoa học được sử dụng trong sáng chế có nghĩa chung được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ngoài ra, các phần mô tả lặp lại về cùng cấu hình và vận hành kỹ thuật như cấu hình và vận hành kỹ thuật của lĩnh vực kỹ thuật liên quan sẽ được bỏ qua.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn với than chiếm đến các ví dụ sau. Các ví dụ này được cung cấp chỉ nhằm mục đích minh họa, và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ thấy rõ ràng các ví dụ này không được hiểu là giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Phát triển chế phẩm

Bốn chế phẩm tiêm dưới da trastuzumab được bào chế như được thể hiện trong Bảng 6. Các chế phẩm từ 1 đến 4 thường chứa 120 mg/mL của trastuzumab và bao gồm histidin/histidin-HCl 20 mM (độ pH 5,5), trehaloza 210 mM, methionin 10mM, và biến thể PH20. Sự khác biệt giữa các chế phẩm từ 1 đến 4 là nồng độ chất hoạt động bề mặt không ion, trong đó chế phẩm 1: polysorbat 20 0%, chế phẩm 2: polysorbat 20 0,005%, chế phẩm 3: polysorbat 20 0,04%, và chế phẩm 4: polysorbat 20 0,1%.

Bảng 6. Thành phần của chế phẩm

	Chế phẩm 1	Chế phẩm 2	Chế phẩm 3	Chế phẩm 4
Kháng thể	Trastuzumab (120 mg/mL)			
Chất đệm	Histidin/histidin-HCl 20 mM			
Chất ổn định 1	Trehaloza 210 mM			
Chất ổn định 2	Methionin 10mM			
Polysorbat 20	0%	0,005%	0,04%	0,1%
Hyaluronidaza	HP46 có trình tự SEQ ID NO: 44 (2.000 đơn vị/mL)			

Ví dụ 2. Phương pháp đo sử dụng quang phổ kế

Các chế phẩm từ 1 đến 4 được để yên trong 14 ngày ở 45°C, và sự thay đổi về nồng độ protein được phân tích bằng cách sử dụng quang phổ kế do Beckman sản xuất. Mỗi mẫu được pha loãng với nước cất sao cho nồng độ của mẫu là 0,4 mg/mL, và sau đó độ hấp thụ ở 280 nm của protein được đo bằng cách sử dụng quang phổ kế. Trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 45°C trong 14 ngày, không có sự thay đổi đáng kể về nồng độ protein của các chế phẩm từ 1 đến 4. Tuy nhiên, hoạt tính hyaluronidaza bị giảm nhanh ở 45°C, và do đó, trong ví dụ theo sáng chế, hoạt tính enzym không được đo (xem FIG. 6).

Ví dụ 3. Nghiên cứu tỷ lệ monome của trastuzumab trong mỗi chế phẩm bằng cách sử dụng sắc ký loại trừ kích cỡ

Để phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ, hệ thống HPLC có sẵn từ Shimadzu Prominence và TSK-gel G3000SWXL (7,8 X 300 mm, 5 µm) và cột bảo vệ TSK (6,0 x 4,0 mm, 7 µm) được sử dụng. Đối với pha động, kali phosphat 0,2 M (độ pH 6,2) chứa

kali clorua 0,25 M được sử dụng. Phân tích được thực hiện trong 35 phút bằng cách áp dụng phương thức tách đẳng dòng ở lưu lượng 0,5 mL/phút. Mẫu được pha loãng với dung môi phân tích sao cho nồng độ cuối là 10 mg/mL, và sau khi tiêm 20 μ L vào cột HPLC, độ hấp thụ ở 280 nm của dung dịch rửa giải cột được ghi lại. Tỷ lệ monome của trastuzumab trong sắc ký đồ HPLC được tính toán và vẽ đồ thị.

Khi phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ được thực hiện trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 45°C trong 14 ngày, các chế phẩm từ 1 đến 4 cho thấy các kiểu thay đổi tương tự. Các thay đổi chính là sự gia tăng các sản phẩm phân hủy có trọng lượng phân tử cao (HMW-high-molecular-weight) và trọng lượng phân tử thấp (LMW-low-molecular-weight) và sự giảm hàm lượng monome (khoảng 1,5%), và không có sự khác biệt đáng kể theo chế phẩm. Tóm lại, với kết quả của việc thực hiện phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 45°C, không có sự khác biệt đáng kể về profil độ ổn định giữa các chế phẩm theo nồng độ polysorbat 20 (từ 0 đến 0,1% (khối lượng/thể tích)) (xem Fig.1).

Ví dụ 4. Phương pháp đo nhiệt độ kết tụ protein của chế phẩm chứa Trastuzumab và HP46

Kỹ thuật tán xạ ánh sáng động (DLS-Dynamic light scattering) được sử dụng để phân tích đặc tính biến tính của protein do nhiệt gây ra. Trong thí nghiệm này, sự thay đổi về kích thước phân tử protein theo sự thay đổi nhiệt độ được đo và được sử dụng nhằm mục đích tính toán nhiệt độ kết tụ protein. Đối với phân tích DLS, thiết bị Zetasizer-nano-ZS có sẵn từ Malvern, và cuvet thạch anh (ZEN2112) được sử dụng. Trong quy trình phân tích này, nhiệt độ được tăng từ 25°C đến 85°C ở khoảng cách 1°C, và mẫu được pha loãng đến 1 mg/mL bằng cách sử dụng mỗi chất đệm pha chế, và sau đó 150 μ L mẫu được bổ sung vào cuvet để phân tích.

Nhiệt độ kết tụ ở chế phẩm 1, không chứa polysorbat 20, là 74°C, và nhiệt độ kết tụ ở các chế phẩm từ 2 đến 4 là 76°C (xem FIG. 2)).

Ví dụ 5: Phương pháp đo sắc ký WCX đối với chế phẩm chứa trastuzumab và HP46

Đối với phân tích sắc ký WCX, hệ thống HPLC có sẵn từ Shimadzu Prominence, và dưới dạng cột, cột TSKgel CM-STAT (4,6 x 100 mm, 7 μ m), gel bảo vệ TSKgel

CMSTAT (đường kính trong 3,2 mm x 1,5 cm), và các dạng tương tự được sử dụng. Pha động A là natri phosphat 10 mM (độ pH 7,5) và pha động B là natri phosphat 10 mM (độ pH 7,2) chứa NaCl 0,1 M. Phân tích được thực hiện trong 55 phút với gradien nồng độ tuyến tính từ 0 đến 30% pha động B ở lưu lượng 0,8 mL/phút. Mẫu được pha loãng với pha động A sao cho nồng độ cuối là 1,0 mg/mL, 80 µL mẫu được tiêm vào HPLC, và sau đó độ hấp thụ của dung dịch rửa giải cột ở 280 nm được ghi lại. Tỷ lệ monome của trastuzumab trong sắc ký đồ HPLC được tính toán và vẽ đồ thị.

Các chế phẩm từ 1 đến 4 cho thấy các kiểu thay đổi tương tự khi phân tích WCX được thực hiện trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 45°C trong 14 ngày. Các thay đổi cụ thể bao gồm sự gia tăng hàm lượng tương đối của biến thể axit (mức thay đổi khoảng 30% trong 14 ngày), sự giảm hàm lượng tương đối của đỉnh chính (mức thay đổi khoảng 44% trong 14 ngày), và sự gia tăng hàm lượng tương đối của biến thể bazơ (mức thay đổi khoảng 15% trong 14 ngày), và không có sự khác biệt đáng kể theo chế phẩm. Tóm lại, trong phân tích WCX trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 45°C, độ ổn định protein theo polysorbat 20 (từ 0 đến 0,1%) là tương tự (xem FIG. 3).

Ví dụ 6. Phát triển chế phẩm

Ba loại chế phẩm tiêm dưới da trastuzumab được bào chế như được mô tả trong Bảng 7. Các chế phẩm từ 5 đến 7 thường bao gồm 120 mg/mL của trastuzumab, histidin/histidin-HCl 20 mM (độ pH 5,5), trehaloza 210 mM, methionin 10mM, và HP46. Sự khác biệt giữa các chế phẩm từ 5 đến 7 là thành phần của chất ổn định 3: chế phẩm 5: Polysorbat 20 0,04%, chế phẩm 6: Lys-Lys 50 mM, và chế phẩm 3: glyxin.

Bảng 7. Thành phần của chế phẩm

	Chế phẩm 5	Chế phẩm 6	Chế phẩm 7
Kháng thể	Trastuzumab (120 mg/mL)		
Chất đệm	Histidin/histidin-HCl 20 mM		
Chất ổn định 1	Trehaloza 210 mM		
Chất ổn định 2	Methionin 10mM		
Chất ổn định 3	Polysorbat 20 0,04%	Lys-Lys 50 mM	Glyxin 50 mM
Hyaluronidaza	HP46 có trình tự SEQ ID NO: 44 (2.000 đơn vị/mL)		

Ví dụ 7. Phương pháp đo sử dụng quang phổ kế

Các chế phẩm từ 5 đến 7 được để yên trong 14 ngày ở 45°C, và sự thay đổi về nồng độ protein được phân tích bằng cách sử dụng quang phổ kế do Beckman sản xuất. Mỗi mẫu được pha loãng với nước cất sao cho nồng độ của mẫu là 0,4 mg/mL, và sau đó độ hấp thụ của protein ở 280 nm được đo bằng cách sử dụng quang phổ kế. Trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 45°C trong 14 ngày, không có sự thay đổi đáng kể về nồng độ protein của các chế phẩm từ 5 đến 7. Tuy nhiên, hoạt tính hyaluronidaza bị giảm nhanh ở 45°C, và do đó, trong ví dụ theo sáng chế, hoạt tính enzym không được đo (xem FIG. 6).

Ví dụ 8. Nghiên cứu tỷ lệ monome của trastuzumab trong mỗi chế phẩm bằng cách sử dụng sắc ký loại trừ kích cỡ

Để phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ, hệ thống HPLC có sẵn từ Shimadzu Prominence và dưới dạng cột, TSK-gel G3000SWXL (7,8 X 300 mm, 5 µm) và cột bảo vệ TSK (6,0 x 4,0 mm, 7 µm) được sử dụng. Đối với pha động, kali phosphat 0,2 M (độ pH 6,2) chứa kali clorua 0,25 M được sử dụng. Phương thức tách đẳng dòng được áp dụng ở lưu lượng 0,5 mL/phút trong 35 phút. Mẫu được pha loãng với dung môi phân tích sao cho nồng độ cuối là 10 mg/mL, và sau khi tiêm 20 µL mẫu vào cột HPLC, độ hấp thụ ở 280 nm được đo. Tỷ lệ monome của trastuzumab trong sắc ký đồ HPLC được tính toán và vẽ đồ thị.

Khi phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ được thực hiện trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 45°C trong 14 ngày, các chế phẩm từ 5 đến 7 cho thấy các kiểu thay đổi tương tự. Các thay đổi chính là sự gia tăng tạp chất có trọng lượng phân tử cao (HMW) và trọng lượng phân tử thấp (LMW) và sự giảm hàm lượng monome (khoảng 1,5%), và không có sự khác biệt đáng kể theo chế phẩm. Tóm lại, với kết quả của việc thực hiện phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 45°C, độ ổn định protein tương tự được thể hiện trong chế phẩm polysorbat 20 0,04%, Lys-Lys 50 mM, và glyxin 50 mM (xem FIG. 4).

Ví dụ 9. Phân tích sắc ký WCX của chế phẩm chứa Trastuzumab và HP46

Với phân tích sắc ký WCX, hệ thống HPLC có sẵn từ Shimadzu Prominence, và dưới dạng cột, TSKgel CM-STAT (4,6 x 100 mm, 7 µm), gel bảo vệ TSKgel CMSTAT

(đường kính trong 3,2 mmx 1,5 cm), và các dạng tương tự được sử dụng. Pha động A là natri phosphat 10 mM (độ pH 7,5) và pha động B là natri phosphat 10 mM (độ pH 7,2) chứa NaCl 0,1 M. Phân tích được thực hiện trong 55 phút bằng cách áp dụng phương thức tách của gradien nồng độ tuyến tính từ 0 đến 30% ở lưu lượng 0,8 mL/phút n. Mẫu được pha loãng với pha động A sao cho nồng độ cuối là 1,0 mg/mL, 80 μ L mẫu được tiêm vào HPLC, và sau đó độ hấp thụ ở 280 nm được ghi lại. Tỷ lệ monome của trastuzumab trong sắc ký đồ HPLC được tính toán và vẽ đồ thị.

Các chế phẩm từ 5 đến 7 cho thấy các kiểu thay đổi tương tự khi phân tích WCX được thực hiện trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 45°C trong 14 ngày. Các thay đổi cụ thể bao gồm sự gia tăng hàm lượng tương đối của biến thể axit (mức thay đổi khoảng 30% trong 14 ngày), sự giảm hàm lượng tương đối của đỉnh chính (mức thay đổi khoảng 44% trong 14 ngày), và sự gia tăng hàm lượng tương đối của biến thể bazơ (mức thay đổi khoảng 15% trong 14 ngày), và không có sự khác biệt đáng kể theo chế phẩm. Tóm lại, với kết quả của việc thực hiện phân tích WCX trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 45°C, độ ổn định protein tương tự được thể hiện trong chế phẩm polysorbat 20 0,04%, Lys-Lys 50 mM, và glyxin 50 mM (xem FIG. 5).

Ví dụ 10. Đánh giá độ ổn định của HP46 theo nhiệt độ ở 40°C và 45°C trong chế phẩm tiêm dưới da chứa trastuzumab và HP46

Để đánh giá độ ổn định của HP46 trong chế phẩm tiêm dưới da chứa trastuzumab, trastuzumab (120 mg/mL) và PH20 (2000 đơn vị/mL) được trộn. Ở thời điểm này, chất đệm được sử dụng chứa 20 mM Histidine (độ pH 5,5), trehaloza 210 mM, methionin 10mM, và polysorbat 20 0,04%. Hoạt tính enzym của mẫu đối chứng được đo vào ngày 0, và các mẫu thử nghiệm được để yên ở 40°C hoặc 45°C trong 1 ngày, và sau đó hoạt tính enzym của mỗi mẫu được đo.

Mỗi chế phẩm tiêm dưới da Herceptin, trastuzumab + HW2, và trastuzumab + HP46 được để yên ở 40°C trong 1 ngày, và sau đó hoạt tính hyaluronidaza được đo, và kết quả là, các trường hợp tương ứng thể hiện hoạt tính là 51%, 47%, và 94%, điều này chỉ ra rằng HP46 có độ ổn định nhiệt tốt nhất ở 40°C (xem FIG. 6). Ngoài ra, chế phẩm tiêm dưới da Herceptin, trastuzumab + HW2, và trastuzumab + HP46 được để yên ở 45°C

trong 1 ngày, và sau đó hoạt tính hyaluronidaza được đo, và kết quả là, chế phẩm tiêm dưới da Herceptin và trastuzumab + HW2 không có hoạt tính enzym, nhưng hoạt tính enzym của trastuzumab + HP46 được duy trì (xem FIG. 6).

Ví dụ 11. Phát triển chế phẩm

Ba chế phẩm tiêm dưới da trastuzumab được bào chế như được thể hiện trong Bảng 8. Các chế phẩm từ 8 đến 10 thường chứa 120 mg/mL của trastuzumab, histidin/histidin-HCl 20 mM (độ pH 5,5), trehaloza 210 mM, methionin 10mM, và biến thể PH20. Sự khác biệt giữa các chế phẩm từ 8 đến 10 là nồng độ chất hoạt động bề mặt không ion, trong đó chế phẩm 8: Polysorbat 20 0%, chế phẩm 9: polysorbat 20 0,005%, và chế phẩm 10: polysorbat 20 0,04%.

Bảng 8. Thành phần của chế phẩm

	Chế phẩm 8	Chế phẩm 9	Chế phẩm 10
Kháng thể	Trastuzumab (120 mg/mL)		
Polysorbat 20	0%	0,005%	0,04%
Chất đệm	Histidin/histidin-HCl 20 mM		
Chất ổn định 1	Trehaloza 210 mM		
Chất ổn định 2	Methionin 10mM		
Độ pH	5,5		
Hyaluronidaza	HP46 có trình tự SEQ ID NO: 44 (2.000 đơn vị/mL)		

Ví dụ 12. Phương pháp đo sử dụng quang phổ kế

Các chế phẩm từ 8 đến 10 được để yên trong 14 ngày ở 40°C, và sự thay đổi về nồng độ protein được phân tích bằng cách sử dụng quang phổ kế do Beckman sản xuất. Mỗi mẫu được pha loãng với nước cất sao cho nồng độ của mẫu là 0,4 mg/mL, và sau đó độ hấp thụ ở 280 nm của protein được đo bằng cách sử dụng quang phổ kế. Trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C trong 14 ngày, không có sự thay đổi đáng kể về nồng độ protein của các chế phẩm từ 8 đến 10.

Ví dụ 13. Nghiên cứu tỷ lệ monome của trastuzumab trong mỗi chế phẩm sử dụng sắc ký loại trừ kích cỡ

Để phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ, hệ thống HPLC có sẵn từ Shimadzu Prominence và dưới dạng cột, TSK-gel G3000SWXL (7,8 X 300 mm, 5 µm) và cột bảo

vệ TSK (6,0 x 4,0 mm, 7 μ m) được sử dụng. Đối với pha động, kali phosphat 0,2 M (độ pH 6,2) chứa kali clorua 0,25 M được sử dụng. Phân tích được thực hiện trong 35 phút bằng cách áp dụng phương thức tách đẳng dòng ở lưu lượng 0,5 mL/phút. Mẫu được pha loãng với dung môi phân tích sao cho nồng độ cuối là 10 mg/mL, và sau khi tiêm 20 μ L mẫu vào cột HPLC, độ hấp thụ ở 280 nm được đo. Tỷ lệ monome của trastuzumab trong sắc ký đồ HPLC được tính toán và vẽ đồ thị.

Khi phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ được thực hiện trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C trong 14 ngày, các chế phẩm từ 8 đến 10 cho thấy các kiểu thay đổi tương tự. Các thay đổi chính là sự gia tăng sản phẩm phân hủy có trọng lượng phân tử cao (HMW) và trọng lượng phân tử thấp (LMW) và sự giảm hàm lượng monome (ít hơn khoảng 1,0%), và không có sự khác biệt đáng kể theo chế phẩm. Tóm lại, với kết quả của việc thực hiện phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C, không có sự khác biệt đáng kể về profil độ ổn định giữa các chế phẩm theo nồng độ (từ 0 đến 0,04%) của polysorbat 20 (xem FIG. 7).

Ví dụ 14. Phương pháp đo nhiệt độ kết tụ protein đối với chế phẩm chứa Trastuzumab và HP46

Kỹ thuật tán xạ ánh sáng động (DLS) được sử dụng để phân tích đặc tính biến tính của protein do nhiệt gây ra trong lĩnh vực được chất protein. Trong thí nghiệm này, sự thay đổi về kích thước phân tử protein theo sự thay đổi nhiệt độ được đo và được sử dụng nhằm mục đích tính toán nhiệt độ kết tụ protein. Đối với phân tích DLS, thiết bị Zetasizer-nano-ZS có sẵn từ Malvern, và cuvet thạch anh (ZEN2112) được sử dụng. Trong quy trình phân tích, nhiệt độ được tăng từ 25°C đến 85°C ở khoảng cách 1°C, và mẫu được pha loãng đến 1 mg/mL bằng cách sử dụng mỗi chất đệm pha chế, và sau đó 150 μ L mẫu được bổ sung vào cuvet để phân tích.

Nhiệt độ kết tụ ở chế phẩm 8, không chứa polysorbat 20, là 78,3°C, chế phẩm 9 thể hiện nhiệt độ kết tụ là 77,3°C, và chế phẩm 10 thể hiện nhiệt độ kết tụ là 77,7°C. Trong ví dụ 13, không thể hiện sự thay đổi về tỷ lệ monome của protein mặc dù không chứa polysorbat 20, và kết quả của việc so sánh trường hợp không chứa polysorbat 20 với trường hợp chứa polysorbat 20 đã xác nhận được rằng không có sự khác biệt trong sự kết

tụ giữa các protein. Các kết quả này chỉ ra rằng lượng tối thiểu của polysorbat 20 không nhất thiết cần phải có cho các chế phẩm tiêm dưới da chứa trastuzumab (xem FIG. 8).

Ví dụ 15. Phân tích sắc ký WCX đối với chế phẩm chứa Trastuzumab và HP46

Đối với phân tích sắc ký WCX, hệ thống HPLC có sẵn từ Shimadzu Prominence, và dưới dạng cột, cột TSKgel CM-STAT (4,6 x 100 mm, 7 μ m), gel bảo vệ TSKgel CMSTAT (đường kính trong 3,2 mm x 1,5 cm), và các dạng tương tự được sử dụng. Pha động A là natri phosphat 10 mM (độ pH 7,5) và pha động B là natri phosphat 10 mM (độ pH 7,2) chứa NaCl 0,1 M. Phân tích được thực hiện trong 55 phút với gradien nồng độ tuyến tính từ 0 đến 30% pha động B ở lưu lượng 0,8 mL/phút. Mẫu được pha loãng với pha động A sao cho nồng độ cuối là 1,0 mg/mL, 80 μ L mẫu được tiêm vào HPLC, và sau đó độ hấp thụ của dung dịch rửa giải cột ở 280 nm được ghi lại. Tỷ lệ monome của trastuzumab trong sắc ký đồ HPLC được tính toán và vẽ đồ thị.

Các chế phẩm từ 8 đến 10 cho thấy các kiểu thay đổi tương tự khi phân tích WCX được thực hiện trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C trong 14 ngày. Các thay đổi cụ thể bao gồm sự gia tăng hàm lượng tương đối của biến thể axit (mức thay đổi khoảng 10% trong 14 ngày), sự giảm hàm lượng tương đối của đỉnh chính (mức thay đổi khoảng 40% trong 14 ngày), và sự gia tăng hàm lượng tương đối của biến thể bazơ (mức thay đổi khoảng 300% trong 14 ngày), và không có sự khác biệt đáng kể theo chế phẩm. Tóm lại, trong phân tích WCX trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C, độ ổn định protein theo polysorbat 20 (từ 0 đến 0,04%) là tương tự (xem FIG. 9).

Ví dụ 16. Phương pháp đo hoạt tính enzym đối với chế phẩm chứa Trastuzumab và HP46

Thử nghiệm đo độ đục để đo hoạt tính enzym là phương pháp đo, bằng độ hấp thụ, mức độ mà chất kết tụ được tạo thành bằng cách liên kết axit hyaluronic còn lại với albumin được axit hóa (BSA), và khi axit hyaluronic được thủy phân bằng PH20, mức độ liên kết với albumin bị giảm, dẫn đến độ hấp thụ giảm. BTH (Sigma) dưới dạng sản phẩm chuẩn hóa được pha loãng đến 1 đơn vị/mL, 2 đơn vị/mL, 5 đơn vị/mL, 7,5 đơn vị/mL, 10 đơn vị/mL, 15 đơn vị/mL, 20 đơn vị/mL, 30 đơn vị/mL, 50 đơn vị/mL, và 60 đơn vị/mL và được điều chế trong mỗi ống. Các mẫu biến thể PH20 đã tinh chế được pha loãng với dung dịch đệm pha loãng enzym (Tris-HCl 20 mM, độ pH 7,0, NaCl 77 mM, albumin

huyết thanh bò 0,01% (khối lượng/thể tích)) đến 100X, 300X, 600X, 1200X, và 2400X và được điều chế trong mỗi ống. Trong các ống mới, dung dịch hyaluronidaza, có nồng độ là 3 mg/mL, được pha loãng gấp 10 lần đến nồng độ là 0,3 mg/mL sao cho thể tích của mỗi ống trở thành 180 μ L. 60 μ L mẫu chứa hyaluronidaza được bổ sung vào dung dịch axit hyaluronic đã pha loãng và được trộn với nó, và được cho phản ứng ở 37°C trong 45 phút. Sau khi phản ứng hoàn thành, 50 μ L enzym phản ứng và 250 μ L dung dịch albumin có tính axit được bổ sung vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng và được lắc trong 10 phút, và sau đó độ hấp thụ ở 600 nm được đo bằng cách sử dụng quang phổ kế.

Đối với kết quả của việc thực hiện hoạt tính phân tích trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C trong 14 ngày, đã xác nhận rằng nồng độ polysorbat 20 càng cao thì hoạt tính giảm theo thời gian càng nhiều (xem FIG. 10).

Ví dụ 17. Phát triển chế phẩm

Ba chế phẩm tiêm dưới da trastuzumab được bào chế như được thể hiện trong Bảng 9. Các chế phẩm từ 11 đến 13 thường chứa 120 mg/mL của trastuzumab, histidin/histidin-HCl 20 mM (độ pH 5,5), trehaloza 210 mM, methionin 10mM, và biến thể PH20. Sự khác biệt giữa các chế phẩm từ 11 đến 13 là nồng độ chất hoạt động bề mặt không ion, trong đó chế phẩm 11: polysorbat 80 0%, chế phẩm 12: polysorbat 80 0,005%, và chế phẩm 13: polysorbat 80 0,04%.

Bảng 9. Thành phần của chế phẩm

	Chế phẩm 11	Chế phẩm 12	Chế phẩm 13
Kháng thể	Trastuzumab (120 mg/mL)		
Polysorbat 80	0%	0,005%	0,04%
Chất đệm	Histidin/histidin-HCl 20 mM		
Chất ổn định 1	Trehaloza 210 mM		
Chất ổn định 2	Methionin 10mM		
Độ pH	5,5		
Hyaluronidaza	HP46 có trình tự SEQ ID NO: 44 (2.000 đơn vị/mL)		

Khi phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ được thực hiện trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C trong 14 ngày, các chế phẩm từ 11 đến 13 cho thấy các kiểu thay đổi tương tự. Các thay đổi chính là sự gia tăng sản phẩm phân hủy có trọng lượng phân tử cao (HMW) và trọng lượng phân tử thấp (LMW) và sự giảm hàm

lượng monome (ít hơn khoảng 1,0%), và không có sự khác biệt đáng kể theo chế phẩm. Tóm lại, với kết quả của việc thực hiện phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C, không có sự khác biệt đáng kể về profil độ ổn định giữa các chế phẩm theo nồng độ (từ 0 đến 0,04%) của polysorbat 80 (xem FIG. 11).

Ví dụ 18. Phân tích sắc ký WCX đối với chế phẩm chứa Trastuzumab và HP46

Đối với phân tích sắc ký WCX, hệ thống HPLC có sẵn từ Shimadzu Prominence và dưới dạng cột, cột TSKgel CM-STAT (4,6 x 100 mm, 7 µm), gel bảo vệ TSKgel CMSTAT (đường kính trong 3,2 mm x 1,5 cm), và các dạng tương tự được sử dụng. Pha động A là natri phosphat 10 mM (độ pH 7,5) và pha động B là natri phosphat 10 mM (độ pH 7,2) chứa NaCl 0,1 M. Phân tích được thực hiện trong 55 phút với gradien nồng độ tuyến tính từ 0 đến 30% pha động B ở lưu lượng 0,8 mL/phút. Mẫu được pha loãng với pha động A sao cho nồng độ cuối là 1,0 mg/mL, 80 µL mẫu được tiêm vào HPLC, và sau đó độ hấp thụ của dung dịch rửa giải cột ở 280 nm được ghi lại. Tỷ lệ monome của trastuzumab trong sắc ký đồ HPLC được tính toán và vẽ đồ thị.

Các chế phẩm từ 11 đến 13 cho thấy các kiểu thay đổi tương tự khi phân tích WCX được thực hiện trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C trong 14 ngày. Các thay đổi cụ thể bao gồm sự gia tăng hàm lượng tương đối của biến thể axit (mức thay đổi khoảng 10% trong 14 ngày), sự giảm hàm lượng tương đối của đỉnh chính (mức thay đổi khoảng 40% trong 14 ngày), và sự gia tăng hàm lượng tương đối của biến thể bazơ (mức thay đổi khoảng 300% trong 14 ngày), và không có sự khác biệt đáng kể theo chế phẩm. Tóm lại, trong phân tích WCX trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C, độ ổn định protein theo polysorbat 80 (từ 0 đến 0,04%) là tương tự (xem FIG. 12).

Ví dụ 19. Phương pháp đo hoạt tính enzym đối với chế phẩm chứa Trastuzumab và HP46

Thử nghiệm đo độ đục để đo hoạt tính enzym là phương pháp đo, bằng độ hấp thụ, mức độ mà chất kết tụ được tạo thành bằng cách liên kết axit hyaluronic còn lại với albumin được axit hóa (BSA), và khi axit hyaluronic được thủy phân bằng PH20, mức độ liên kết với albumin bị giảm, dẫn đến độ hấp thụ giảm. BTH (Sigma) là sản phẩm chuẩn hóa được pha loãng đến 1 đơn vị/mL, 2 đơn vị/mL, 5 đơn vị/mL, 7,5 đơn vị/mL, 10 đơn

vi/mL, 15 đơn vị/mL, 20 đơn vị/mL, 30 đơn vị/mL, 50 đơn vị/mL, và 60 đơn vị/mL và được điều chế trong mỗi ống. Mẫu protein đã tinh chế được pha loãng với dung dịch đệm pha loãng enzym (Tris·HCl 20 mM, độ pH 7,0, NaCl 77 mM, albumin huyết thanh bò 0,01% (khối lượng/thể tích)) đến 100X, 300X, 600X, 1200X, và 2400X và được điều chế trong mỗi ống. Trong các ống mới, dung dịch hyaluronidaza, có nồng độ là 3 mg/mL, được pha loãng gấp 10 lần đến nồng độ là 0,3 mg/mL sao cho thể tích của mỗi ống trở thành 180 μ L. 60 μ L mẫu chứa hyaluronidaza được bổ sung vào dung dịch axit hyaluronic đã pha loãng, được trộn với nó, và được cho phản ứng ở 37°C trong 45 phút. Sau khi phản ứng hoàn thành, 50 μ L enzym phản ứng và 250 μ L dung dịch albumin có tính axit được bổ sung vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng và được lắc trong 10 phút, và sau đó độ hấp thụ ở 600 nm được đo bằng cách sử dụng quang phổ kế.

Đối với kết quả của việc thực hiện hoạt tính phân tích trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C trong 14 ngày, đã xác nhận rằng nồng độ polysorbat 80 càng cao thì hoạt tính giảm theo thời gian càng nhiều (xem FIG. 13).

Ví dụ 20. Phát triển chế phẩm

Ba loại chế phẩm rituximab được tạo ra như được mô tả trong Bảng 10. Các chế phẩm từ 14 đến 16 thường bao gồm 120 mg/mL của rituximab, histidin/histidin-HCl 20 mM (độ pH 5,5), trehaloza 210 mM, methionin 10mM, và biến thể PH20. Sự khác biệt giữa các chế phẩm từ 14 đến 16 là nồng độ chất hoạt động bề mặt không ion: chế phẩm 14: Polysorbat 80 0%, chế phẩm 15: Polysorbat 80 0,005%, và chế phẩm 16: Polysorbat 80 0,06%.

Bảng 10. Thành phần của chế phẩm

	Chế phẩm 14	Chế phẩm 15	Chế phẩm 16
Rituximab	120 mg/mL ($\pm$ 10)		
PS 80	0%	0,005%	0,06%
Chất đệm	Histidin/histidin-HCl 20 mM		
Chất ổn định 1	Trehaloza 210 mM		
Chất ổn định 2	Methionin 10mM		
Độ pH	5,5		
Hyaluronidaza	HP46 có trình tự SEQ ID NO: 44 (2.000 đơn vị/mL)		

Khi phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ được thực hiện trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C trong 7 ngày, các chế phẩm từ 14 đến 16 cho thấy các kiểu thay đổi tương tự. Các thay đổi chính là sự gia tăng sản phẩm phân hủy có trọng lượng phân tử cao (HMW) và trọng lượng phân tử thấp (LMW) và sự giảm hàm lượng monome (ít hơn khoảng 1,0%), và không có sự khác biệt đáng kể theo chế phẩm. Tóm lại, với kết quả của việc thực hiện phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C, không có sự khác biệt đáng kể về profil độ ổn định giữa các chế phẩm theo nồng độ (từ 0 đến 0,06%) của polysorbate 80 (xem FIG. 14).

Ví dụ 21. Phương pháp đo hoạt tính enzym đối với chế phẩm chứa Rituximab và HP46

Thử nghiệm đo độ đục để đo hoạt tính enzym là phương pháp đo, bằng độ hấp thụ, mức độ mà chất kết tụ được tạo thành bằng cách liên kết axit hyaluronic còn lại với albumin được axit hóa (BSA), và khi axit hyaluronic được thủy phân bằng PH20, mức độ liên kết với albumin bị giảm, dẫn đến độ hấp thụ giảm. BTH (Sigma) là sản phẩm chuẩn hóa được pha loãng đến 1 đơn vị/mL, 2 đơn vị/mL, 5 đơn vị/mL, 7,5 đơn vị/mL, 10 đơn vị/mL, 15 đơn vị/mL, 20 đơn vị/mL, 30 đơn vị/mL, 50 đơn vị/mL, và 60 đơn vị/mL và được điều chế trong mỗi ống. Mẫu protein đã tinh chế được pha loãng với dung dịch đệm pha loãng enzym (Tris·HCl 20 mM, độ pH 7,0, NaCl 77 mM, albumin huyết thanh bò 0,01% (khối lượng/thể tích)) đến 100X, 300X, 600X, 1200X, và 2400X và được điều chế trong mỗi ống. Trong các ống mới, dung dịch hyaluronidaza, có nồng độ là 3 mg/mL, được pha loãng gấp 10 lần đến nồng độ là 0,3 mg/mL sao cho thể tích của mỗi ống trở thành 180 µL. 60 µL mẫu chứa hyaluronidaza được bổ sung vào dung dịch axit hyaluronic đã pha loãng, được trộn với nó, và được cho phản ứng ở 37°C trong 45 phút. Sau khi phản ứng hoàn thành, 50 µL enzym phản ứng và 250 µL dung dịch albumin có tính axit được bổ sung vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng và được lắc trong 10 phút, và sau đó độ hấp thụ ở 600 nm được đo bằng cách sử dụng quang phổ kế.

Đối với kết quả của việc thực hiện hoạt tính phân tích trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, mà, ở 40°C trong 7 ngày, đã xác nhận rằng nồng độ polysorbate 80 càng cao thì hoạt tính giảm theo thời gian càng nhiều (xem FIG. 15).

Ví dụ 22. Phương pháp đo hoạt tính enzym trong chế phẩm của các sản phẩm có bán trên thị trường không chứa Polysorbat

Hai loại chế phẩm rituximab có bán trên thị trường được điều chế như được mô tả trong Bảng 11. Chế phẩm 17 là chất đệm có bán trên thị trường cho chế phẩm tiêm dưới da, và chế phẩm 18 là chất đệm có bán trên thị trường cho chế phẩm tiêm trong tĩnh mạch. Chế phẩm 17 và 18 chứa biến thể PH20 và rituximab ở 120 mg/mL và 100 mg/mL, tương ứng, nhưng không chứa polysorbat 80 khác với chế phẩm của sản phẩm có bán trên thị trường.

Bảng 11. Thành phần của chế phẩm

	Chế phẩm 17	Chế phẩm 18
Rituximab	120 mg/mL	100 mg/mL
Chất đệm	Histidin/histidin-HCl 20 mM	Natri xitrat 25 mM
Chất ổn định 1	Trehaloza 210 mM	NaCl 145 mM
Chất ổn định 2	Methionin 10mM	Methionin 10mM
Độ pH	5,5	6,5
Hyaluronidaza	HP46 có trình tự SEQ ID NO: 44 (2.000 đơn vị/mL)	

Thử nghiệm đo độ đục để đo hoạt tính enzym là phương pháp đo, bằng độ hấp thụ, mức độ mà chất kết tụ được tạo thành bằng cách liên kết axit hyaluronic còn lại với albumin được axit hóa (BSA), và khi axit hyaluronic được thủy phân bằng PH20, mức độ liên kết với albumin bị giảm, dẫn đến độ hấp thụ giảm. BTH (Sigma) là sản phẩm chuẩn hóa được pha loãng đến 1 đơn vị/mL, 2 đơn vị/mL, 5 đơn vị/mL, 7,5 đơn vị/mL, 10 đơn vị/mL, 15 đơn vị/mL, 20 đơn vị/mL, 30 đơn vị/mL, 50 đơn vị/mL, và 60 đơn vị/mL và được điều chế trong mỗi ống. Mẫu protein đã tinh chế được pha loãng với dung dịch đệm pha loãng enzym (Tris-HCl 20 mM, độ pH 7,0, NaCl 77 mM, albumin huyết thanh bò 0,01% (khối lượng/thể tích)) đến 100X, 300X, 600X, 1200X, và 2400X và được điều chế trong mỗi ống. Trong các ống mới, dung dịch hyaluronidaza, có nồng độ là 3 mg/mL, được pha loãng gấp 10 lần đến nồng độ là 0,3 mg/mL sao cho thể tích của mỗi ống trở

thành 180 μL . 60 μL mẫu chứa hyaluronidaza được bổ sung vào dung dịch axit hyaluronic đã pha loãng, được trộn với nó, và được cho phản ứng ở 37°C trong 45 phút. Sau khi phản ứng hoàn thành, 50 μL enzym phản ứng và 250 μL dung dịch albumin có tính axit được bổ sung vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng và được lắc trong 10 phút, và sau đó độ hấp thụ ở 600 nm được đo bằng cách sử dụng quang phổ kế.

Đối với kết quả của việc thực hiện hoạt tính phân tích trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, mà, ở 40°C trong 6 ngày, đã xác nhận rằng hoạt tính cao được duy trì ngay cả ở chế phẩm không chứa polysorbat 80, và cụ thể là chế phẩm 18 được duy trì hoạt tính cao (xem FIG. 16).

Ví dụ 23. Phát triển chế phẩm

Bốn loại chế phẩm pembrolizumab được điều chế như được mô tả trong Bảng 12. Chế phẩm 19, 20, và 21 thường bao gồm 25 mg/mL của pembrolizumab, histidin 10 mM (độ pH 5,5), sucroza 7%, methionin 10mM, và biến thể PH20. Sự khác biệt giữa các chế phẩm từ 19 đến 21 là nồng độ chất hoạt động bề mặt không ion: chế phẩm 19: Polysorbat 80 0%, chế phẩm 20: Polysorbat 80 0,005%, và chế phẩm 21: Polysorbat 80 0,02%. Chế phẩm 22 chứa 25 mg/mL của pembrolizumab và bao gồm histidin 10 mM (độ pH 5,5), trehaloza 210 mM, methionin 10mM, polysorbat 80 0,02%, và biến thể PH20.

Bảng 12. Thành phần của chế phẩm

	Chế phẩm 19	Chế phẩm 20	Chế phẩm 21	Chế phẩm 22
Kháng thể	Pembrolizumab (25 mg/mL)			
Chất đệm	Histidin 10 mM (độ pH 5,5)			
Chất ổn định 1	Sucroza 7%	Sucroza 7%	Sucroza 7%	Trehaloza 210 mM
Chất ổn định 2	Methionin 10mM	Methionin 10mM	Methionin 10mM	Methionin 10mM
Polysorbat 80	0%	0,005%	0,02%	0,02%
Hyaluronidaza	HP46 có trình tự SEQ ID NO: 44 (2.000 đơn vị/mL)			

Ví dụ 24 Phương pháp đo sử dụng quang phổ kế

Chế phẩm 19, 20, 21, và 22 được để yên trong 7 ngày ở 40°C, và sự thay đổi về nồng độ protein được phân tích bằng cách sử dụng quang phổ kế do Beckman sản xuất.

Mỗi mẫu được pha loãng với nước cất sao cho nồng độ của mẫu là 0,4 mg/mL, và sau đó độ hấp thụ của protein ở 280 nm được đo bằng cách sử dụng quang phổ kế.

Trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C trong 7 ngày, không có sự thay đổi đáng kể về nồng độ protein của các chế phẩm từ 19 đến 22.

Ví dụ 25. Nghiên cứu tỷ lệ monome của Pembrolizumab trong mỗi chế phẩm bằng cách sử dụng sắc ký loại trừ kích cỡ

Để phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ, hệ thống HPLC có sẵn từ Shimadzu Prominence và dưới dạng cột, TSK-gel G3000SWXL (7,8 X 300 mm, 5 µm) và cột bảo vệ TSK (6,0 x 4,0 mm, 7 µm) được sử dụng. Đối với pha động, kali phosphat 0,2 M (độ pH 6,2) chứa kali clorua 0,25 M được sử dụng. Phân tích được thực hiện trong 35 phút bằng cách áp dụng phương thức tách đẳng dòng ở lưu lượng 0,5 mL/phút. Mẫu được pha loãng với dung môi phân tích sao cho nồng độ cuối là 10 mg/mL, và sau khi tiêm 20 µL mẫu vào cột HPLC, độ hấp thụ của dung dịch rửa giải cột ở 280 nm được đo. Tỷ lệ monome của Pembrolizumab trong sắc ký đồ HPLC được tính toán và vẽ đồ thị.

Khi phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ được thực hiện trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C trong 7 ngày, chế phẩm 19, 20, 21, và 22 cho thấy các kiểu thay đổi tương tự. Không có sự khác biệt đáng kể theo chế phẩm trong mô hình thay đổi của các sản phẩm phân hủy có trọng lượng phân tử cao (HMW) và trọng lượng phân tử thấp (LMW). Tóm lại, với kết quả của việc thực hiện phân tích sắc ký loại trừ kích cỡ trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C, chế phẩm 19, 20, 21, và 22 đã không thể hiện sự khác biệt đáng kể bất kỳ, và cũng không có sự khác biệt theo loại đường (xem FIG. 17). Các kết quả này phù hợp với các kết quả của các trường trường hợp của trastuzumab và rituximab theo các ví dụ trước đó.

Ví dụ 26. Phương pháp đo hoạt tính enzym đối với chế phẩm chứa Pembrolizumab và HP46

Thử nghiệm đo độ đục để đo hoạt tính enzym là phương pháp đo, bằng độ hấp thụ, mức độ mà chất kết tụ được tạo thành bằng cách liên kết axit hyaluronic còn lại với albumin được axit hóa (BSA), và khi axit hyaluronic được thủy phân bằng PH20, mức độ liên kết với albumin bị giảm, dẫn đến độ hấp thụ giảm. BTH (Sigma) là sản phẩm chuẩn hóa được pha loãng đến 1 đơn vị/mL, 2 đơn vị/mL, 5 đơn vị/mL, 7,5 đơn vị/mL, 10 đơn vị/mL, 15 đơn vị/mL, 20 đơn vị/mL, 30 đơn vị/mL, 50 đơn vị/mL, và 60 đơn vị/mL và

được điều chế trong mỗi ống. Mẫu protein đã tinh chế được pha loãng với dung dịch đệm pha loãng enzym (Tris·HCl 20 mM, độ pH 7,0, NaCl 77 mM, albumin huyết thanh bò 0,01% (khối lượng/thể tích)) đến 100X, 300X, 600X, 1200X, và 2400X và được điều chế trong mỗi ống. Trong các ống mới, dung dịch hyaluronidaza, có nồng độ là 3 mg/mL, được pha loãng gấp 10 lần đến nồng độ là 0,3 mg/mL sao cho thể tích của mỗi ống trở thành 180 μ L. 60 μ L mẫu chứa enzym được bổ sung vào dung dịch axit hyaluronic đã pha loãng, được trộn với nó, và được cho phản ứng ở 37°C trong 45 phút. Sau khi phản ứng hoàn thành, 50 μ L enzym phản ứng và 250 μ L dung dịch albumin có tính axit được bổ sung vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng và được lắc trong 10 phút, và sau đó độ hấp thụ ở 600 nm được đo bằng cách sử dụng quang phổ kế.

Đối với kết quả của việc thực hiện hoạt tính phân tích trong thử nghiệm độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt, tức là ở 40°C trong 7 ngày, đã xác nhận rằng khi nồng độ polysorbat 80 tăng lên, sự giảm hoạt tính theo thời gian là khá lớn. Cũng đã xác nhận rằng khi bao gồm cùng một lượng polysorbat 80, sự giảm hoạt tính nhỏ hơn trong chế phẩm chứa trehaloza so với trong chế phẩm chứa sucroza (xem FIG. 18).

Ví dụ 27. Profil pH-hoạt tính của HP46 và HW2 kiểu đại

Đối với thử nghiệm để xác nhận profil pH-hoạt tính của HP46 và HW2 kiểu đại, phương pháp thử nghiệm đo độ đục vi mô được sử dụng. Chất đệm axit hyaluronic để hòa tan axit hyaluronic dưới dạng cơ chất và chất đệm enzym để pha loãng enzym được chuẩn bị cho mỗi độ pH.

Tổng ba đĩa 96 giếng được chuẩn bị cho phản ứng giữa enzym và cơ chất và được chỉ định là A, B, và C, và thử nghiệm được thực hiện.

Chất đệm axit hyaluronic ở độ pH 4,0, 4,5, hoặc 5,0 được điều chế bằng cách sử dụng axit axetic 20 mM và NaCl 70 mM, và dung dịch axit hyaluronic ở độ pH 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, hoặc 8,0 được tạo ra bằng cách sử dụng natri phosphat 20 mM và NaCl 70 mM. 20 mg của axit hyaluronic được hòa tan trong 10 mL của mỗi chất đệm axit hyaluronic đã điều chế để tạo ra dung dịch cơ chất axit hyaluronic cuối, mà sau đó được pha loãng với mỗi chất đệm axit hyaluronic được điều chế theo độ pH để tạo ra 500 μ L dung dịch thu được đến nồng độ 0,1 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,45 mg/mL, hoặc 0,7 mg/mL, và 100 μ L mỗi dung dịch được phân phối vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng được chỉ định là A. Chất

đệm axit hyaluronic, được pha loãng và được điều chế theo nồng độ, được sử dụng làm đường cong hiệu chỉnh để đo nồng độ axit hyaluronic.

Chất đệm enzym ở độ pH 4,0, 4,5, hoặc 5,0 được điều chế bằng cách sử dụng axit axetic 20 mM, 0,01% (khối lượng/thể tích) BSA, và NaCl 70 mM, và chất đệm enzym ở độ pH 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, hoặc 8,0 được điều chế bằng cách sử dụng natri phosphat 20 mM, 0,01% (khối lượng/thể tích) BSA, và NaCl 70 mM.

Enzyme HP46 và HW2 kiểu đại được pha loãng với enzym chất đệm được điều chế theo độ pH đến 10 đơn vị/mL, và 50 μ L dung dịch tạo thành được phân phối vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng được chỉ định là B.

50 μ L mẫu được chuyển từ mỗi giếng của đĩa 96 giếng được chỉ định là A vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng được chỉ định là B, tiếp theo là cho phản ứng xảy ra trong tủ ủ đang lắc ở 37°C trong 45 phút. 15 phút trước khi phản ứng hoàn thành, 200 μ L dung dịch albumin có tính axit được phân phối vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng được chỉ định là C và được điều chế, và khi phản ứng cơ chất enzym được hoàn thành, 40 μ L mẫu được chuyển từ mỗi giếng của đĩa 96 giếng được chỉ định là B vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng được chỉ định là C, tiếp theo là cho phản ứng xảy ra trong 20 phút. Sau 20 phút, độ hấp thụ ở 600 nm được đo, và lượng axit hyaluronic dư sau phản ứng cơ chất enzym được tính toán, và profil hoạt tính của enzym theo độ pH được hoàn thành (xem FIG. 19).

Ví dụ 28. Thử nghiệm đối với dược động học bằng cách sử dụng chế phẩm tiêm dưới da Herceptin và Trastuzumab và HP46 ở chuột Sprague-Dawley

Để kiểm tra liệu chế phẩm tiêm dưới da chứa trastuzumab và HP46 có thể hiện cùng đặc tính dược động học như đặc tính dược động học của chế phẩm tiêm dưới da Herceptin hay không, thí nghiệm được thực hiện bằng cách sử dụng chuột Sprague-Dawley 9 tuần tuổi. Liều Herceptin và trastuzumab được dùng là 18 mg/kg trọng lượng cơ thể chuột, lượng rHuPH20 được bao gồm trong chế phẩm tiêm dưới da Herceptin là 100 U, và lượng HP46 cũng là 100 U. Trong thử nghiệm dược động học, trastuzumab và HP46 cho thấy cùng diện tích dưới đường cong (AUC-Area Under the Curve) như của chế phẩm tiêm dưới da Herceptin (xem FIG. 20).

Khả năng áp dụng công nghiệp

Dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để tiêm dưới da và cũng rất ổn định, và hoạt tính của biến thể PH20 cùng với dược chất, tốt hơn là dược chất kháng thể

hoặc các dạng tương tự, có thể được duy trì trong một thời gian dài. Do đó, dược phẩm này có thể góp phần vào việc làm giảm không chỉ trong chi phí sản xuất chế phẩm tiêm dưới da mà cả trong chi phí y tế, và rất hiệu quả về mặt tiện lợi của bệnh nhân.

Mặc dù các phương án được ưu tiên hơn của sáng chế đã được bộc lộ nhằm mục đích minh họa, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng có thể thực hiện các cải biến, bổ sung và thay thế khác nhau mà không vượt ra khỏi phạm vi và tinh thần của sáng chế như được bộc lộ trong yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Tài liệu tham khảo

Bookbinder, L.H., Hofer, A., Haller, M.F., Zepeda, M.L., Keller, G.A., Lim, J.E., Edgington, T.S., Shepard, H.M., Patton, J.S., and Frost, G.I. (2006). A recombinant human enzyme for enhanced interstitial transport of therapeutics. *J Control Release* 114, 230-241.

Borders jr., C.L. and Raftery, A. (1968) Purification and Partial Characterization of Testicular Hyaluronidase. *J Biol Chem* 243, 3756-3762

Chao, K.L., Muthukumar, L., and Herzberg, O. (2007). Structure of human hyaluronidase-1, a hyaluronan hydrolyzing enzyme involved in tumor growth and angiogenesis. *Biochemistry* 46, 6911-6920.

Chen, K.J., Sabrina, S., El-Safory, N.S., Lee, G.C., and Lee, C.K. (2016) Constitutive expression of recombinant human hyaluronidase PH20 by *Pichia pastoris*. *J Biosci Bioeng.* 122, 673-678

Frost, G.I. (2007). Recombinant human hyaluronidase (rHuPH20): an enabling platform for subcutaneous drug and fluid administration. *Expert Opin Drug Deliv* 4, 427-440

Hofinger, E.S., Bernhardt, G., and Buschauer, A. (2007) Kinetics of Hyal-1 and PH-20 hyaluronidases: comparison of minimal substrates and analysis of the transglycosylation reaction. *Glycobiology* 17, 963-971

Kreidieh, F.Y., Moukadem, H.A., and Saghir, N.S.E. (2016) Overview, prevention and management of chemotherapy extravasation. *World J Clin Oncol* 7, 87-97.

Thomas, J.R., Yocum, R.C., Haller, M.F., and Flament J. (2009) The INFUSE-Morphine IIB Study: Use of Recombinant Human Hyaluronidase (rHuPH20) to Enhance the Absorption of Subcutaneous Morphine in Healthy Volunteers. *J Pain Symptom Manag* 38, 673-682

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm bao gồm:

- (a) pembrolizumab; và
- (b) biến thể PH20 có trình tự SEQ ID NO:1, trong đó biến thể PH20 này bao gồm:
 - (i) các thay thế của các gốc axit amin M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T trong SEQ ID NO: 1, và các mất đoạn của các gốc axit amin M1–T35, M1–L36, M1–N37, M1–F38, M1–R39, M1–A40, hoặc M1–P41 ở đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 1; hoặc
 - (ii) các thay thế của các gốc axit amin M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T trong SEQ ID NO: 1; các mất đoạn của các gốc axit amin M1–T35, M1–L36, M1–N37, M1–F38, M1–R39, M1–A40, hoặc M1–P41 ở đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 1; và các mất đoạn của tất cả các gốc axit amin sau I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, P478, I480, Y482, A484, P486, T488, hoặc S490 ở đầu tận cùng C của SEQ ID NO: 1.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó biến thể PH20 này bao gồm các thay thế của các gốc axit amin M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T trong SEQ ID NO: 1, và các mất đoạn của các gốc axit amin M1–T35, M1–L36, M1–N37, M1–F38, M1–R39, M1–A40, hoặc M1–P41 ở đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 1

3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó biến thể PH20 này bao gồm các thay thế của các gốc axit amin M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T trong SEQ ID NO: 1; các mất đoạn của các gốc axit amin M1–T35, M1–L36, M1–N37, M1–F38, M1–R39, M1–A40, hoặc M1–P41 ở đầu tận cùng N của SEQ ID NO: 1; và các mất đoạn của tất cả các gốc axit amin sau I465, D466, A467, F468, K470, P471, P472, M473, E474, T475, E476, P478, I480, Y482, A484, P486, T488, hoặc S490 ở đầu tận cùng C của SEQ ID NO: 1.

4. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó biến thể PH20 còn bao gồm thay thế của một hoặc nhiều gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm T341S, L342W, S343E, I344N, và N363G.

5. Chế phẩm theo điểm 3, trong đó biến thể PH20 còn bao gồm thay thế của một hoặc nhiều gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm T341S, L342W, S343E, I344N, và N363G.

6. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó biến thể PH20 này bao gồm các thay thế axit amin được liệt kê trong nhóm bất kỳ trong số các nhóm sau:

(a) T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T;

(b) L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T;

(c) M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T; và

(d) M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T, và N363G.

7. Chế phẩm theo điểm 3, trong đó biến thể PH20 này bao gồm các thay thế axit amin được liệt kê trong nhóm bất kỳ trong số các nhóm sau:

(a) T341S, L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T;

(b) L342W, S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T;

(c) M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T; và

(d) M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, I361T, và N363G.

8. Chế phẩm theo điểm 2 hoặc 3, trong đó biến thể PH20 này bao gồm các thay thế axit amin được liệt kê trong nhóm bất kỳ trong số các nhóm sau:

(a) I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T; và

(b) S343E, I344N, M345T, S347T, M348K, K349E, L352Q, L353A, L354I, D355K, N356E, E359D, và I361T.

9. Chế phẩm bao gồm:

(a) pembrolizumab; và

(b) biến thể PH20, trong đó biến thể PH20 này bao gồm trình tự axit amin bất kỳ trong số SEQ ID NO: 5, và 7-50.

10. Chế phẩm bao gồm:

(a) pembrolizumab; và

(b) biến thể PH20, trong đó biến thể PH20 này bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5, 9, 11, 12, 13, 16, 17, 19, 22, 23, 24, 27, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, hoặc 50.

11. Chế phẩm bao gồm:

(a) pembrolizumab; và

(b) biến thể PH20, trong đó trình tự axit amin của biến thể PH20 này bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:5, 9, 11, 12, 13, 16, 17, 19, 22, 23, 24, 27, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, hoặc 50.

12. Chế phẩm bao gồm:

(a) pembrolizumab; và

(b) biến thể PH20, trong đó biến thể PH20 này bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:44.

13. Chế phẩm bao gồm:

(a) pembrolizumab; và

(b) biến thể PH20, trong đó trình tự axit amin của biến thể PH20 này bao gồm trình tự axit amin SEQ ID NO:44.

14. Chế phẩm theo điểm 12 hoặc 13, trong đó chế phẩm này bao gồm 25 mg/ml pembrolizumab và 2.000 đơn vị/ml biến thể PH20.

15. Chế phẩm theo điểm 12 hoặc 13, trong đó chế phẩm này bao gồm 25 mg/ml pembrolizumab, 2.000 đơn vị/ml biến thể PH20, 10 mM dung dịch đệm histidin (pH 5,5), sucroza 7%, và 10 mM methionin.

16. Chế phẩm theo điểm 15, trong đó chế phẩm này còn bao gồm polysorbat 80 0,005% hoặc 0,02%.

17. Chế phẩm theo điểm 12 hoặc 13, trong đó chế phẩm này bao gồm 25 mg/ml pembrolizumab, 2.000 đơn vị/ml biến thể PH20, 10 mM dung dịch đệm histidin (pH 5,5), 210 mM trehaloza, 10 mM methionin, và polysorbat 80 0,02%.

18. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 17, trong đó chế phẩm này là chế phẩm để tiêm dưới da.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Alteogen, Inc.

<120> CHẾ PHẨM BAO GỒM PEMBROLIZUMAB VÀ BIẾN THỂ PH20

<130> 4240-536

<150> PCT/

<151> 2020

<150> KR 10-2019-0033880

<151> 2019-03-25

<160> 51

<170> Phiên bản PatentIn 3.5

<210> 1

<211> 509

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 1

Met	Gly	Val	Leu	Lys	Phe	Lys	His	Ile	Phe	Phe	Arg	Ser	Phe	Val	Lys
1				5					10					15	

Ser	Ser	Gly	Val	Ser	Gln	Ile	Val	Phe	Thr	Phe	Leu	Leu	Ile	Pro	Cys
			20					25					30		

Cys	Leu	Thr	Leu	Asn	Phe	Arg	Ala	Pro	Pro	Val	Ile	Pro	Asn	Val	Pro
		35					40					45			

Phe	Leu	Trp	Ala	Trp	Asn	Ala	Pro	Ser	Glu	Phe	Cys	Leu	Gly	Lys	Phe
	50					55					60				

Asp	Glu	Pro	Leu	Asp	Met	Ser	Leu	Phe	Ser	Phe	Ile	Gly	Ser	Pro	Arg
65					70					75					80

Ile	Asn	Ala	Thr	Gly	Gln	Gly	Val	Thr	Ile	Phe	Tyr	Val	Asp	Arg	Leu
				85					90					95	

Gly	Tyr	Tyr	Pro	Tyr	Ile	Asp	Ser	Ile	Thr	Gly	Val	Thr	Val	Asn	Gly
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

100	105	110
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys		
115	120	125
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val		
130	135	140
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro		
145	150	155
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn		
165	170	175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe		
180	185	190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys		
195	200	205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys		
210	215	220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn		
225	230	235
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser		
245	250	255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val		
260	265	270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val		
275	280	285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr		
290	295	300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu		
305	310	315
		320

```

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
                325                      330                      335

Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
                340                      345                      350

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
                355                      360                      365

Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
                370                      375                      380

Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385                      390                      395                      400

Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
                405                      410                      415

Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
                420                      425                      430

Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
                435                      440                      445

Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450                      455                      460

Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465                      470                      475                      480

Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
                485                      490                      495

Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu
                500                      505

```

```

<210> 2
<211> 26
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 2

Met	Ala	Thr	Gly	Ser	Arg	Thr	Ser	Leu	Leu	Leu	Ala	Phe	Gly	Leu	Leu
1				5				10						15	

Cys	Leu	Pro	Trp	Leu	Gln	Glu	Gly	Ser	Ala
			20					25	

<210> 3

<211> 18

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 3

Met	Lys	Trp	Val	Thr	Phe	Ile	Ser	Leu	Leu	Phe	Leu	Phe	Ser	Ser	Ala
1				5				10						15	

Tyr Ser

<210> 4

<211> 21

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 4

Met	Ala	Ala	His	Leu	Leu	Pro	Ile	Cys	Ala	Leu	Phe	Leu	Thr	Leu	Leu
1				5				10						15	

Asp	Met	Ala	Gln	Gly
			20	

<210> 5

<211> 455

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 5

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195	200	205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu		
210	215	220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr		
225	230	235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile		
	245	250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val		
	260	265 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr		
	275	280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp		
	290	295 300
Gly Thr Leu Ser Ile Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys		
305	310	315 320
Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Gly Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu		
	325	330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys		
	340	345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp		
	355	360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly		
	370	375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys		
385	390	395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp		
	405	410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445

Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450 455

<210> 6
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 6

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
 195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
 210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
 225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
 245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
 260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
 275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Phe Ile Leu Asn Val Thr Ser
 325 330 335

Gly Ala Leu Leu Cys Ser Gln Ala Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450 455
 <210> 7
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 7
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50		55		60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro				
65		70		75 80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile				
	85		90	95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp				
	100		105	110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val				
	115		120	125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu				
	130		135	140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala				
145		150	155	160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg				
	165		170	175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His				
	180		185	190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile				
	195		200	205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu				
	210		215	220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr				
225		230	235	240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile				
	245		250	255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val				
	260		265	270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
 275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Gly Pro Phe Ile Leu Asn Val Thr Ser
 325 330 335

Gly Ala Leu Leu Cys Ser Gln Ala Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445

Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450 455

<210> 8
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 8

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195	200	205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu		
210	215	220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr		
225	230	235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile		
	245	250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val		
	260	265 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr		
	275	280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp		
	290	295 300
Val Ser Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys		
305	310	315 320
Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Gly Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu		
	325	330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys		
	340	345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp		
	355	360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly		
	370	375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys		
385	390	395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp		
	405	410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445

Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450 455

<210> 9
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 9

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
 195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
 210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
 225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
 245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
 260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
 275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450 455
 <210> 10
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 10
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50		55		60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro				
65		70		75
				80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile				
		85		90
				95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp				
		100		105
				110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val				
		115		120
				125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu				
		130		135
				140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala				
		145		150
				155
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg				
		165		170
				175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His				
		180		185
				190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile				
		195		200
				205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu				
		210		215
				220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr				
		225		230
				235
				240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile				
		245		250
				255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val				
		260		265
				270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
 275 280 285
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290 295 300
 Val Ser Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450 455

<210> 11
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 11

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195	200	205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu		
210	215	220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr		
225	230	235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile		
	245	250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val		
	260	265 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr		
	275	280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp		
	290	295 300
Gly Thr Leu Ser Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys		
305	310	315 320
Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu		
	325	330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys		
	340	345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp		
	355	360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly		
	370	375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys		
385	390	395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp		
	405	410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445

Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450 455

<210> 12
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 12

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
 195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
 210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
 225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
 245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
 260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
 275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290 295 300

Gly Thr Leu Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450 455
 <210> 13
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 13
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr

50		55		60
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro				
65		70		75
				80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile				
		85		90
				95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp				
		100		105
				110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val				
		115		120
				125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu				
		130		135
				140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala				
145		150		155
				160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg				
		165		170
				175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His				
		180		185
				190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile				
		195		200
				205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu				
		210		215
				220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr				
225		230		235
				240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile				
		245		250
				255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val				
		260		265
				270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
 275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290 295 300

Gly Thr Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445

Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450 455

<210> 14
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 14

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195	200	205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu		
210	215	220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr		
225	230	235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile		
	245	250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val		
	260	265 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr		
	275	280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp		
	290	295 300
Gly Thr Leu Ser Ile Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys		
305	310	315 320
Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Phe Ile Leu Asn Val Thr Leu		
	325	330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys		
	340	345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp		
	355	360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly		
	370	375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys		
385	390	395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp		
	405	410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445

Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450 455

<210> 15
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 15

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
 195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
 210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
 225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
 245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
 260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
 275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Phe Ile Leu Asn Val Thr Ser
 325 330 335

Gly Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys

340 345 350
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450 455
 <210> 16
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 16
 Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
 1 5 10 15
 Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
 20 25 30
 Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
 35 40 45
 Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr

50		55		60
Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys				
65		70	75	80
Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe				
	85		90	95
Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu				
	100		105	110
Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys				
	115		120	125
Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu				
	130		135	140
Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys				
145		150	155	160
Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn				
	165		170	175
His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr				
	180		185	190
Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile Lys Arg				
	195		200	205
Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro				
	210		215	220
Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr				
225		230	235	240
Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp				
	245		250	255
Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr				
	260		265	270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe
 275 280 285

Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr
 290 295 300

Leu Ser Ile Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr
 305 310 315 320

Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala
 325 330 335

Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
 340 345 350

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
 355 360 365

Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
 370 375 380

Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
 385 390 395 400

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
 405 410 415

Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
 420 425 430

Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn Ala Ser
 435 440 445

Pro Ser Thr Leu Ser
 450

<210> 17
 <211> 430
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 17

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195					200					205					
Lys	Arg	Asn	Asp	Asp	Leu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Glu	Ser	Thr	Ala	Leu
	210					215					220				
Tyr	Pro	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asn	Thr	Gln	Gln	Ser	Pro	Val	Ala	Ala	Thr
225					230					235					240
Leu	Tyr	Val	Arg	Asn	Arg	Val	Arg	Glu	Ala	Ile	Arg	Val	Ser	Lys	Ile
				245					250					255	
Pro	Asp	Ala	Lys	Ser	Pro	Leu	Pro	Val	Phe	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ile	Val
			260					265					270		
Phe	Thr	Asp	Gln	Val	Leu	Lys	Phe	Leu	Ser	Gln	Asp	Glu	Leu	Val	Tyr
		275					280					285			
Thr	Phe	Gly	Glu	Thr	Val	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Gly	Ile	Val	Ile	Trp
	290					295					300				
Gly	Thr	Leu	Ser	Ile	Thr	Arg	Thr	Lys	Glu	Ser	Cys	Gln	Ala	Ile	Lys
305					310					315					320
Glu	Tyr	Met	Asp	Thr	Thr	Leu	Asn	Pro	Tyr	Ile	Ile	Asn	Val	Thr	Leu
				325					330					335	
Ala	Ala	Lys	Met	Cys	Ser	Gln	Val	Leu	Cys	Gln	Glu	Gln	Gly	Val	Cys
			340					345					350		
Ile	Arg	Lys	Asn	Trp	Asn	Ser	Ser	Asp	Tyr	Leu	His	Leu	Asn	Pro	Asp
		355					360					365			
Asn	Phe	Ala	Ile	Gln	Leu	Glu	Lys	Gly	Gly	Lys	Phe	Thr	Val	Arg	Gly
	370					375					380				
Lys	Pro	Thr	Leu	Glu	Asp	Leu	Glu	Gln	Phe	Ser	Glu	Lys	Phe	Tyr	Cys
385					390					395					400
Ser	Cys	Tyr	Ser	Thr	Leu	Ser	Cys	Lys	Glu	Lys	Ala	Asp	Val	Lys	Asp
				405					410					415	

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile
 420 425 430

<210> 18
 <211> 433
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 18

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
 195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
 210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
 225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
 245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
 260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
 275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290 295 300

Gly Thr Leu Ser Ile Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370 375 380
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430
 Phe
 <210> 19
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 19
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60
 Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80
 Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp

100	105	110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val		
115	120	125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu		
130	135	140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala		
145	150	155
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg		
165	170	175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His		
180	185	190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile		
195	200	205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu		
210	215	220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr		
225	230	235
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile		
245	250	255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val		
260	265	270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr		
275	280	285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp		
290	295	300
Gly Thr Leu Ser Ile Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys		
305	310	315
		320

Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
420 425 430

Phe Leu Lys Pro
435

<210> 20

<211> 452

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 20

Phe Arg Gly Pro Leu Leu Pro Asn Arg Pro Phe Leu Trp Ala Trp Asn
1 5 10 15

Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp Met
20 25 30

Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly Gln
35 40 45

Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile
 50 55 60

Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe Tyr
 85 90 95

Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu Trp
 100 105 110

Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys Asn
 115 120 125

Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu Thr
 130 135 140

Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys Asp
 145 150 155 160

Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn His
 165 170 175

Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr Lys
 180 185 190

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

Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro Ser
 210 215 220

Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr Val
 225 230 235 240

Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp Ala
 245 250 255

Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr Asp

	260		265		270														
Gln	Val	Leu	Lys	Phe	Leu	Ser	Gln	Asp	Glu	Leu	Val	Tyr	Thr	Phe	Gly				
		275					280					285							
Glu	Thr	Val	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Gly	Ile	Val	Ile	Trp	Gly	Thr	Leu				
	290					295					300								
Ser	Ile	Thr	Arg	Thr	Lys	Glu	Ser	Cys	Gln	Ala	Ile	Lys	Glu	Tyr	Met				
305					310					315					320				
Asp	Thr	Thr	Leu	Asn	Pro	Tyr	Ile	Ile	Asn	Val	Thr	Leu	Ala	Ala	Lys				
				325					330						335				
Met	Cys	Ser	Gln	Val	Leu	Cys	Gln	Glu	Gln	Gly	Val	Cys	Ile	Arg	Lys				
			340					345					350						
Asn	Trp	Asn	Ser	Ser	Asp	Tyr	Leu	His	Leu	Asn	Pro	Asp	Asn	Phe	Ala				
		355					360					365							
Ile	Gln	Leu	Glu	Lys	Gly	Gly	Lys	Phe	Thr	Val	Arg	Gly	Lys	Pro	Thr				
	370					375					380								
Leu	Glu	Asp	Leu	Glu	Gln	Phe	Ser	Glu	Lys	Phe	Tyr	Cys	Ser	Cys	Tyr				
385					390					395					400				
Ser	Thr	Leu	Ser	Cys	Lys	Glu	Lys	Ala	Asp	Val	Lys	Asp	Thr	Asp	Ala				
				405					410					415					
Val	Asp	Val	Cys	Ile	Ala	Asp	Gly	Val	Cys	Ile	Asp	Ala	Phe	Leu	Lys				
			420					425					430						
Pro	Pro	Met	Glu	Thr	Glu	Glu	Pro	Gln	Ile	Phe	Tyr	Asn	Ala	Ser	Pro				
		435					440					445							
Ser	Thr	Leu	Ser																
	450																		

<210> 21
 <211> 452
 <212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 21

Phe Arg Gly Pro Leu Leu Pro Asn Arg Pro Phe Thr Thr Val Trp Asn
1 5 10 15

Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp Met
20 25 30

Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly Gln
35 40 45

Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile
50 55 60

Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys Ile
65 70 75 80

Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe Tyr
85 90 95

Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu Trp
100 105 110

Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys Asn
115 120 125

Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu Thr
130 135 140

Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys Asp
145 150 155 160

Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn His
165 170 175

Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr Lys
180 185 190

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

Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro Ser
 210 215 220

Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr Val
 225 230 235 240

Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp Ala
 245 250 255

Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr Asp
 260 265 270

Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe Gly
 275 280 285

Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr Leu
 290 295 300

Ser Ile Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr Met
 305 310 315 320

Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala Lys
 325 330 335

Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg Lys
 340 345 350

Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe Ala
 355 360 365

Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro Thr
 370 375 380

Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr
 385 390 395 400

Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp Ala

405 410 415
 Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu Lys
 420 425 430
 Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn Ala Ser Pro
 435 440 445
 Ser Thr Leu Ser
 450
 <210> 22
 <211> 433
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 22
 Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
 1 5 10 15
 Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
 20 25 30
 Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
 35 40 45
 Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
 50 55 60
 Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
 65 70 75 80
 Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
 85 90 95
 Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
 100 105 110
 Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys

115	120	125
Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu		
130	135	140
Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys		
145	150	155
Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn		
	165	170
His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr		
	180	185
Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile Lys Arg		
	195	200
Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro		
	210	215
Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr		
225	230	235
Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp		
	245	250
Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr		
	260	265
Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe		
	275	280
Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr		
	290	295
Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr		
305	310	315
Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala		
	325	330

Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
340 345 350

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
355 360 365

Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
370 375 380

Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
385 390 395 400

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
405 410 415

Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
420 425 430

Lys

<210> 23
<211> 431
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 23

Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
1 5 10 15

Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
20 25 30

Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
35 40 45

Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
50 55 60

Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
65 70 75 80

Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
85 90 95

Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
100 105 110

Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
115 120 125

Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu
130 135 140

Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys
145 150 155 160

Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn
165 170 175

His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr
180 185 190

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

Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro
210 215 220

Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr
225 230 235 240

Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp
245 250 255

Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr
260 265 270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe

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

 <210> 24
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

 <400> 24

 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro

20										25					30				
Leu	Asp	Met	Ser	Leu	Phe	Ser	Phe	Ile	Gly	Ser	Pro	Arg	Ile	Asn	Ala				
		35					40					45							
Thr	Gly	Gln	Gly	Val	Thr	Ile	Phe	Tyr	Val	Asp	Arg	Leu	Gly	Tyr	Tyr				
	50					55					60								
Pro	Tyr	Ile	Asp	Ser	Ile	Thr	Gly	Val	Thr	Val	Asn	Gly	Gly	Ile	Pro				
65					70					75					80				
Gln	Lys	Ile	Ser	Leu	Gln	Asp	His	Leu	Asp	Lys	Ala	Lys	Lys	Asp	Ile				
				85					90					95					
Thr	Phe	Tyr	Met	Pro	Val	Asp	Asn	Leu	Gly	Met	Ala	Val	Ile	Asp	Trp				
			100					105						110					
Glu	Glu	Trp	Arg	Pro	Thr	Trp	Ala	Arg	Asn	Trp	Lys	Pro	Lys	Asp	Val				
		115					120					125							
Tyr	Lys	Asn	Arg	Ser	Ile	Glu	Leu	Val	Gln	Gln	Gln	Asn	Val	Gln	Leu				
	130					135						140							
Ser	Leu	Thr	Glu	Ala	Thr	Glu	Lys	Ala	Lys	Gln	Glu	Phe	Glu	Lys	Ala				
145					150					155					160				
Gly	Lys	Asp	Phe	Leu	Val	Glu	Thr	Ile	Lys	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	Arg				
				165					170					175					
Pro	Asn	His	Leu	Trp	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Pro	Asp	Cys	Tyr	Asn	His				
			180					185					190						
His	Tyr	Lys	Lys	Pro	Gly	Tyr	Asn	Gly	Ser	Cys	Phe	Asn	Val	Glu	Ile				
		195					200					205							
Lys	Arg	Asn	Asp	Asp	Leu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Glu	Ser	Thr	Ala	Leu				
	210					215					220								
Tyr	Pro	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asn	Thr	Gln	Gln	Ser	Pro	Val	Ala	Ala	Thr				
225					230					235					240				

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
 245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
 260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
 275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290 295 300

Gly Ser Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
 420 425 430

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
 435 440 445

Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser

450

455

<210> 25
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 25

Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala
 1 5 10 15

Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser
 20 25 30

Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly
 35 40 45

Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp
 50 55 60

Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser
 65 70 75 80

Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met
 85 90 95

Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg
 100 105 110

Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg
 115 120 125

Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu
 130 135 140

Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe
 145 150 155 160

Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn His Leu

				165						170					175
Trp	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Pro	Asp	Cys	Tyr	Asn	His	His	Tyr	Lys	Lys
			180					185					190		
Pro	Gly	Tyr	Asn	Gly	Ser	Cys	Phe	Asn	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Asn	Asp
		195					200					205			
Asp	Leu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Glu	Ser	Thr	Ala	Leu	Tyr	Pro	Ser	Ile
	210					215					220				
Tyr	Leu	Asn	Thr	Gln	Gln	Ser	Pro	Val	Ala	Ala	Thr	Leu	Tyr	Val	Arg
225					230					235					240
Asn	Arg	Val	Arg	Glu	Ala	Ile	Arg	Val	Ser	Lys	Ile	Pro	Asp	Ala	Lys
				245					250					255	
Ser	Pro	Leu	Pro	Val	Phe	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ile	Val	Phe	Thr	Asp	Gln
			260					265					270		
Val	Leu	Lys	Phe	Leu	Ser	Gln	Asp	Glu	Leu	Val	Tyr	Thr	Phe	Gly	Glu
		275					280					285			
Thr	Val	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Gly	Ile	Val	Ile	Trp	Gly	Thr	Leu	Ser
	290					295					300				
Ile	Thr	Arg	Thr	Lys	Glu	Ser	Cys	Gln	Ala	Ile	Lys	Glu	Tyr	Met	Asp
305					310					315					320
Thr	Thr	Leu	Asn	Pro	Tyr	Ile	Ile	Asn	Val	Thr	Leu	Ala	Ala	Lys	Met
			325						330					335	
Cys	Ser	Gln	Val	Leu	Cys	Gln	Glu	Gln	Gly	Val	Cys	Ile	Arg	Lys	Asn
			340					345					350		
Trp	Asn	Ser	Ser	Asp	Tyr	Leu	His	Leu	Asn	Pro	Asp	Asn	Phe	Ala	Ile
		355					360					365			
Gln	Leu	Glu	Lys	Gly	Gly	Lys	Phe	Thr	Val	Arg	Gly	Lys	Pro	Thr	Leu
	370					375					380				

Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser
385 390 395 400

Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp Ala Val
405 410 415

Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro
420 425 430

Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser
435 440 445

Thr Leu Ser
450

<210> 26
<211> 449
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 26

Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser
1 5 10 15

Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe
20 25 30

Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr
35 40 45

Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile
50 55 60

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

Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val
85 90 95

Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr
 100 105 110

Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile
 115 120 125

Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr
 130 135 140

Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val
 145 150 155 160

Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly
 165 170 175

Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly
 180 185 190

Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu
 195 200 205

Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu
 210 215 220

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

Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro
 245 250 255

Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu
 260 265 270

Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val
 275 280 285

Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Thr
 290 295 300

Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr Met Asp Thr Thr

55

20										25					30															
Leu	Asp	Met	Ser	Leu	Phe	Ser	Phe	Ile	Gly	Ser	Pro	Arg	Ile	Asn	Ala															
		35					40					45																		
Thr	Gly	Gln	Gly	Val	Thr	Ile	Phe	Tyr	Val	Asp	Arg	Leu	Gly	Tyr	Tyr															
	50					55					60																			
Pro	Tyr	Ile	Asp	Ser	Ile	Thr	Gly	Val	Thr	Val	Asn	Gly	Gly	Ile	Pro															
65					70					75					80															
Gln	Lys	Ile	Ser	Leu	Gln	Asp	His	Leu	Asp	Lys	Ala	Lys	Lys	Asp	Ile															
				85					90					95																
Thr	Phe	Tyr	Met	Pro	Val	Asp	Asn	Leu	Gly	Met	Ala	Val	Ile	Asp	Trp															
			100					105						110																
Glu	Glu	Trp	Arg	Pro	Thr	Trp	Ala	Arg	Asn	Trp	Lys	Pro	Lys	Asp	Val															
		115					120					125																		
Tyr	Lys	Asn	Arg	Ser	Ile	Glu	Leu	Val	Gln	Gln	Gln	Asn	Val	Gln	Leu															
	130					135						140																		
Ser	Leu	Thr	Glu	Ala	Thr	Glu	Lys	Ala	Lys	Gln	Glu	Phe	Glu	Lys	Ala															
145					150					155					160															
Gly	Lys	Asp	Phe	Leu	Val	Glu	Thr	Ile	Lys	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	Arg															
				165					170					175																
Pro	Asn	His	Leu	Trp	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Pro	Asp	Cys	Tyr	Asn	His															
			180					185					190																	
His	Tyr	Lys	Lys	Pro	Gly	Tyr	Asn	Gly	Ser	Cys	Phe	Asn	Val	Glu	Ile															
		195					200					205																		
Lys	Arg	Asn	Asp	Asp	Leu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Glu	Ser	Thr	Ala	Leu															
	210					215					220																			
Tyr	Pro	Ser	Ile	Tyr	Leu	Asn	Thr	Gln	Gln	Ser	Pro	Val	Ala	Ala	Thr															
225					230					235					240															

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
290 295 300

Gly Thr Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
420 425 430

<210> 28

<211> 429

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 28

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile

195	200	205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu		
210	215	220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr		
225	230	235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile		
	245	250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val		
	260	265 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr		
	275	280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp		
	290	295 300
Gly Thr Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys		
305	310	315 320
Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu		
	325	330 335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys		
	340	345 350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp		
	355	360 365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly		
	370	375 380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys		
385	390	395 400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp		
	405	410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
 420 425

<210> 29
 <211> 426
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 29

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
 130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
 145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
 165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
 180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
 195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
 210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
 225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
 245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
 260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
 275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290 295 300

Gly Thr Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly

370

375

380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp
 420 425

<210> 30
 <211> 423
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 30

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
 85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
 100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val

115	120	125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu		
130	135	140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala		
145	150	155 160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg		
	165	170 175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His		
	180	185 190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile		
	195	200 205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu		
	210	215 220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr		
225	230	235 240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile		
	245	250 255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val		
	260	265 270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr		
	275	280 285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp		
	290	295 300
Gly Thr Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys		
305	310	315 320
Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu		
	325	330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
 340 345 350

Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
 355 360 365

Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
 370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
 385 390 395 400

Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
 405 410 415

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys
 420

<210> 31
 <211> 420
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 31

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro
 20 25 30

Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala
 35 40 45

Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr
 50 55 60

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
 65 70 75 80

Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
85 90 95

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
100 105 110

Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
130 135 140

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145 150 155 160

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
165 170 175

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
180 185 190

His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
195 200 205

Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
210 215 220

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225 230 235 240

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
245 250 255

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
260 265 270

Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
275 280 285

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp

66

67

Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr
 260 265 270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe
 275 280 285

Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Ser
 290 295 300

Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr
 305 310 315 320

Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala
 325 330 335

Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
 340 345 350

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
 355 360 365

Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
 370 375 380

Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
 385 390 395 400

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
 405 410 415

Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
 420 425 430

Lys

<210> 33
 <211> 435
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 33

Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
 1 5 10 15

Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
 20 25 30

Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
 35 40 45

Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
 50 55 60

Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
 65 70 75 80

Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
 85 90 95

Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
 100 105 110

Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
 115 120 125

Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu
 130 135 140

Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys
 145 150 155 160

Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn
 165 170 175

His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr
 180 185 190

Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile Lys Arg

195	200	205
Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro		
210	215	220
Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr		
225	230	235 240
Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp		
	245	250 255
Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr		
	260	265 270
Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe		
	275	280 285
Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr		
	290	295 300
Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr		
305	310	315 320
Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala		
	325	330 335
Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg		
	340	345 350
Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe		
	355	360 365
Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro		
	370	375 380
Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys		
385	390	395 400
Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp		
	405	410 415

Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
 420 425 430

Lys Pro Pro
 435

<210> 34
 <211> 436
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 34

Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
 1 5 10 15

Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
 20 25 30

Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
 35 40 45

Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
 50 55 60

Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
 65 70 75 80

Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
 85 90 95

Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
 100 105 110

Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
 115 120 125

Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu
 130 135 140

Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys
145 150 155 160

Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn
165 170 175

His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr
180 185 190

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

Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro
210 215 220

Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr
225 230 235 240

Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp
245 250 255

Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr
260 265 270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe
275 280 285

Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr
290 295 300

Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala
325 330 335

Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
340 345 350

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe

355 360 365
 Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
 370 375 380
 Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
 385 390 395 400
 Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
 405 410 415
 Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
 420 425 430
 Lys Pro Pro Met
 435
 <210> 35
 <211> 437
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 35
 Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
 1 5 10 15
 Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
 20 25 30
 Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
 35 40 45
 Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
 50 55 60
 Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
 65 70 75 80
 Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe

				85					90					95					
Tyr	Met	Pro	Val	Asp	Asn	Leu	Gly	Met	Ala	Val	Ile	Asp	Trp	Glu	Glu				
			100					105					110						
Trp	Arg	Pro	Thr	Trp	Ala	Arg	Asn	Trp	Lys	Pro	Lys	Asp	Val	Tyr	Lys				
		115					120					125							
Asn	Arg	Ser	Ile	Glu	Leu	Val	Gln	Gln	Gln	Asn	Val	Gln	Leu	Ser	Leu				
	130					135					140								
Thr	Glu	Ala	Thr	Glu	Lys	Ala	Lys	Gln	Glu	Phe	Glu	Lys	Ala	Gly	Lys				
145					150					155					160				
Asp	Phe	Leu	Val	Glu	Thr	Ile	Lys	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	Arg	Pro	Asn				
				165					170					175					
His	Leu	Trp	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Pro	Asp	Cys	Tyr	Asn	His	His	Tyr				
			180					185					190						
Lys	Lys	Pro	Gly	Tyr	Asn	Gly	Ser	Cys	Phe	Asn	Val	Glu	Ile	Lys	Arg				
		195					200					205							
Asn	Asp	Asp	Leu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Glu	Ser	Thr	Ala	Leu	Tyr	Pro				
	210					215					220								
Ser	Ile	Tyr	Leu	Asn	Thr	Gln	Gln	Ser	Pro	Val	Ala	Ala	Thr	Leu	Tyr				
225					230					235				240					
Val	Arg	Asn	Arg	Val	Arg	Glu	Ala	Ile	Arg	Val	Ser	Lys	Ile	Pro	Asp				
				245					250					255					
Ala	Lys	Ser	Pro	Leu	Pro	Val	Phe	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ile	Val	Phe	Thr				
			260					265					270						
Asp	Gln	Val	Leu	Lys	Phe	Leu	Ser	Gln	Asp	Glu	Leu	Val	Tyr	Thr	Phe				
		275					280					285							
Gly	Glu	Thr	Val	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Gly	Ile	Val	Ile	Trp	Gly	Thr				
	290					295					300								

Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala
325 330 335

Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
340 345 350

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
355 360 365

Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
370 375 380

Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
385 390 395 400

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
405 410 415

Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
420 425 430

Lys Pro Pro Met Glu
435

<210> 36

<211> 438

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 36

Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
1 5 10 15

Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
20 25 30

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

	245		250		255
Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr	260		265		270
Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe	275		280		285
Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr	290		295		300
Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr	305		310		315
Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala	325		330		335
Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg	340		345		350
Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe	355		360		365
Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro	370		375		380
Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys	385		390		395
Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp	405		410		415
Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu	420		425		430
Lys Pro Pro Met Glu Thr	435				
<210>	37				
<211>	439				
<212>	PRT				

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 37

Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
1 5 10 15

Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
20 25 30

Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
35 40 45

Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
50 55 60

Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
65 70 75 80

Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
85 90 95

Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
100 105 110

Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
115 120 125

Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu
130 135 140

Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys
145 150 155 160

Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn
165 170 175

His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr
180 185 190

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

Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro
210 215 220

Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr
225 230 235 240

Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp
245 250 255

Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr
260 265 270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe
275 280 285

Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr
290 295 300

Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala
325 330 335

Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
340 345 350

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
355 360 365

Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
370 375 380

Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
385 390 395 400

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp

405 410 415
 Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
 420 425 430
 Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu
 435
 <210> 38
 <211> 454
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 38
 Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala
 1 5 10 15
 Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu
 20 25 30
 Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr
 35 40 45
 Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro
 50 55 60
 Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln
 65 70 75 80
 Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr
 85 90 95
 Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu
 100 105 110
 Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr
 115 120 125
 Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser

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

Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn
 355 360 365

Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys
 370 375 380

Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser
 385 390 395 400

Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr
 405 410 415

Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe
 420 425 430

Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn Ala
 435 440 445

Ser Pro Ser Thr Leu Ser
 450

<210> 39

<211> 452

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 39

Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp Asn
 1 5 10 15

Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp Met
 20 25 30

Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly Gln
 35 40 45

Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile
 50 55 60

Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys Ile
65 70 75 80

Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe Tyr
85 90 95

Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu Trp
100 105 110

Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys Asn
115 120 125

Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu Thr
130 135 140

Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys Asp
145 150 155 160

Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn His
165 170 175

Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr Lys
180 185 190

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

Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro Ser
210 215 220

Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr Val
225 230 235 240

Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp Ala
245 250 255

Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr Asp
260 265 270

Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe Gly

275 280 285
 Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr Leu
 290 295 300
 Ser Ile Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr Met
 305 310 315 320
 Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala Lys
 325 330 335
 Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg Lys
 340 345 350
 Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe Ala
 355 360 365
 Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro Thr
 370 375 380
 Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr
 385 390 395 400
 Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp Ala
 405 410 415
 Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu Lys
 420 425 430
 Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn Ala Ser Pro
 435 440 445
 Ser Thr Leu Ser
 450

<210> 40
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 40

Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro
 1 5 10 15

Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu
 20 25 30

Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val
 35 40 45

Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser
 50 55 60

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

Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro
 85 90 95

Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro
 100 105 110

Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser
 115 120 125

Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala
 130 135 140

Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu
 145 150 155 160

Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp
 165 170 175

Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro
 180 185 190

Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp
 195 200 205

Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr
 210 215 220

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

Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser
 245 250 255

Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val
 260 265 270

Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr
 275 280 285

Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile
 290 295 300

Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr Met Asp Thr
 305 310 315 320

Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys
 325 330 335

Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp
 340 345 350

Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln
 355 360 365

Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu
 370 375 380

Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr
 385 390 395 400

Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp
 405 410 415

Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro

420 425 430
 Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr
 435 440 445

 Leu Ser
 450

 <210> 41
 <211> 428
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

 <400> 41

 Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
 1 5 10 15

 Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
 20 25 30

 Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
 35 40 45

 Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
 50 55 60

 Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
 65 70 75 80

 Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
 85 90 95

 Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
 100 105 110

 Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
 115 120 125

 Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu

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

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
355 360 365

Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
370 375 380

Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
385 390 395 400

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
405 410 415

Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile
420 425

<210> 42

<211> 429

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 42

Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
1 5 10 15

Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
20 25 30

Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
35 40 45

Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
50 55 60

Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
65 70 75 80

Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
85 90 95

Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
 100 105 110

Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
 115 120 125

Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu
 130 135 140

Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys
 145 150 155 160

Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn
 165 170 175

His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr
 180 185 190

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

Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro
 210 215 220

Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr
 225 230 235 240

Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp
 245 250 255

Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr
 260 265 270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe
 275 280 285

Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Ser
 290 295 300

Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr

91

50		55		60
Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys				
65		70	75	80
Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe				
	85		90	95
Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu				
	100		105	110
Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys				
	115		120	125
Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu				
	130		135	140
Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys				
145		150	155	160
Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn				
	165		170	175
His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr				
	180		185	190
Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile Lys Arg				
	195		200	205
Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro				
	210		215	220
Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr				
225		230	235	240
Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp				
	245		250	255
Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr				
	260		265	270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe
275 280 285

Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Ser
290 295 300

Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala
325 330 335

Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
340 345 350

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
355 360 365

Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
370 375 380

Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
385 390 395 400

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
405 410 415

Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
420 425 430

<210> 44

<211> 431

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 44

Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
1 5 10 15

Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
 20 25 30

Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
 35 40 45

Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
 50 55 60

Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
 65 70 75 80

Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
 85 90 95

Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
 100 105 110

Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
 115 120 125

Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu
 130 135 140

Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys
 145 150 155 160

Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn
 165 170 175

His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr
 180 185 190

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

Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro
 210 215 220

Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr

```

225                230                235                240

Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp
      245                250                255

Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr
      260                265                270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe
      275                280                285

Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Ser
      290                295                300

Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr
      305                310                315                320

Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala
      325                330                335

Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
      340                345                350

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
      355                360                365

Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
      370                375                380

Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
      385                390                395                400

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
      405                410                415

Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe
      420                425                430

<210> 45
<211> 441
<212> PRT

```

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 45

Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
1 5 10 15

Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
20 25 30

Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
35 40 45

Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
50 55 60

Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
65 70 75 80

Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
85 90 95

Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
100 105 110

Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
115 120 125

Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu
130 135 140

Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys
145 150 155 160

Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn
165 170 175

His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr
180 185 190

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

Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro
 210 215 220

Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr
 225 230 235 240

Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp
 245 250 255

Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr
 260 265 270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe
 275 280 285

Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr
 290 295 300

Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr
 305 310 315 320

Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala
 325 330 335

Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
 340 345 350

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
 355 360 365

Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
 370 375 380

Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
 385 390 395 400

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp

405 410 415
 Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
 420 425 430
 Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro
 435 440
 <210> 46
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 46
 Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
 1 5 10 15
 Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
 20 25 30
 Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
 35 40 45
 Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
 50 55 60
 Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
 65 70 75 80
 Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
 85 90 95
 Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
 100 105 110
 Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
 115 120 125
 Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu

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

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
355 360 365

Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
370 375 380

Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
385 390 395 400

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
405 410 415

Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
420 425 430

Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
435 440

<210> 47

<211> 445

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 47

Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
1 5 10 15

Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
20 25 30

Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
35 40 45

Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
50 55 60

Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
65 70 75 80

Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
85 90 95

Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
100 105 110

Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
115 120 125

Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu
130 135 140

Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys
145 150 155 160

Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn
165 170 175

His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr
180 185 190

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

Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro
210 215 220

Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr
225 230 235 240

Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp
245 250 255

Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr
260 265 270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe
275 280 285

Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr

290 295 300
 Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala
 325 330 335
 Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
 340 345 350
 Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
 355 360 365
 Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
 370 375 380
 Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
 385 390 395 400
 Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
 405 410 415
 Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
 420 425 430
 Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr
 435 440 445
 <210> 48
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 48
 Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
 1 5 10 15
 Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp

20										25					30															
Met	Ser	Leu	Phe	Ser	Phe	Ile	Gly	Ser	Pro	Arg	Ile	Asn	Ala	Thr	Gly															
		35					40					45																		
Gln	Gly	Val	Thr	Ile	Phe	Tyr	Val	Asp	Arg	Leu	Gly	Tyr	Tyr	Pro	Tyr															
	50					55					60																			
Ile	Asp	Ser	Ile	Thr	Gly	Val	Thr	Val	Asn	Gly	Gly	Ile	Pro	Gln	Lys															
65					70					75					80															
Ile	Ser	Leu	Gln	Asp	His	Leu	Asp	Lys	Ala	Lys	Lys	Asp	Ile	Thr	Phe															
				85					90					95																
Tyr	Met	Pro	Val	Asp	Asn	Leu	Gly	Met	Ala	Val	Ile	Asp	Trp	Glu	Glu															
			100					105						110																
Trp	Arg	Pro	Thr	Trp	Ala	Arg	Asn	Trp	Lys	Pro	Lys	Asp	Val	Tyr	Lys															
			115				120					125																		
Asn	Arg	Ser	Ile	Glu	Leu	Val	Gln	Gln	Gln	Asn	Val	Gln	Leu	Ser	Leu															
	130					135					140																			
Thr	Glu	Ala	Thr	Glu	Lys	Ala	Lys	Gln	Glu	Phe	Glu	Lys	Ala	Gly	Lys															
145					150					155				160																
Asp	Phe	Leu	Val	Glu	Thr	Ile	Lys	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	Arg	Pro	Asn															
				165					170					175																
His	Leu	Trp	Gly	Tyr	Tyr	Leu	Phe	Pro	Asp	Cys	Tyr	Asn	His	His	Tyr															
			180					185					190																	
Lys	Lys	Pro	Gly	Tyr	Asn	Gly	Ser	Cys	Phe	Asn	Val	Glu	Ile	Lys	Arg															
		195					200					205																		
Asn	Asp	Asp	Leu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Glu	Ser	Thr	Ala	Leu	Tyr	Pro															
	210					215					220																			
Ser	Ile	Tyr	Leu	Asn	Thr	Gln	Gln	Ser	Pro	Val	Ala	Ala	Thr	Leu	Tyr															
225					230					235				240																

Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp
245 250 255

Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr
260 265 270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe
275 280 285

Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr
290 295 300

Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala
325 330 335

Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
340 345 350

Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
355 360 365

Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
370 375 380

Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
385 390 395 400

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
405 410 415

Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
420 425 430

Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn Ala
435 440 445

<210> 49

<211> 449
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 49

Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
 1 5 10 15

Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
 20 25 30

Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
 35 40 45

Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
 50 55 60

Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
 65 70 75 80

Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
 85 90 95

Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
 100 105 110

Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
 115 120 125

Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu
 130 135 140

Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys
 145 150 155 160

Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn
 165 170 175

His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr

	180		185		190														
Lys	Lys	Pro	Gly	Tyr	Asn	Gly	Ser	Cys	Phe	Asn	Val	Glu	Ile	Lys	Arg				
	195						200					205							
Asn	Asp	Asp	Leu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Glu	Ser	Thr	Ala	Leu	Tyr	Pro				
	210					215					220								
Ser	Ile	Tyr	Leu	Asn	Thr	Gln	Gln	Ser	Pro	Val	Ala	Ala	Thr	Leu	Tyr				
225					230					235					240				
Val	Arg	Asn	Arg	Val	Arg	Glu	Ala	Ile	Arg	Val	Ser	Lys	Ile	Pro	Asp				
				245					250					255					
Ala	Lys	Ser	Pro	Leu	Pro	Val	Phe	Ala	Tyr	Thr	Arg	Ile	Val	Phe	Thr				
			260					265					270						
Asp	Gln	Val	Leu	Lys	Phe	Leu	Ser	Gln	Asp	Glu	Leu	Val	Tyr	Thr	Phe				
	275						280					285							
Gly	Glu	Thr	Val	Ala	Leu	Gly	Ala	Ser	Gly	Ile	Val	Ile	Trp	Gly	Thr				
	290					295					300								
Trp	Glu	Asn	Thr	Arg	Thr	Lys	Glu	Ser	Cys	Gln	Ala	Ile	Lys	Glu	Tyr				
305					310					315					320				
Met	Asp	Thr	Thr	Leu	Asn	Pro	Tyr	Ile	Ile	Asn	Val	Thr	Leu	Ala	Ala				
				325					330					335					
Lys	Met	Cys	Ser	Gln	Val	Leu	Cys	Gln	Glu	Gln	Gly	Val	Cys	Ile	Arg				
			340					345					350						
Lys	Asn	Trp	Asn	Ser	Ser	Asp	Tyr	Leu	His	Leu	Asn	Pro	Asp	Asn	Phe				
	355						360					365							
Ala	Ile	Gln	Leu	Glu	Lys	Gly	Gly	Lys	Phe	Thr	Val	Arg	Gly	Lys	Pro				
	370					375					380								
Thr	Leu	Glu	Asp	Leu	Glu	Gln	Phe	Ser	Glu	Lys	Phe	Tyr	Cys	Ser	Cys				
385					390					395					400				

Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
 405 410 415

Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
 420 425 430

Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn Ala Ser
 435 440 445

Pro

<210> 50
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 50

Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp Ala Trp
 1 5 10 15

Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro Leu Asp
 20 25 30

Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala Thr Gly
 35 40 45

Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr Pro Tyr
 50 55 60

Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro Gln Lys
 65 70 75 80

Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile Thr Phe
 85 90 95

Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp Glu Glu
 100 105 110

Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val Tyr Lys
 115 120 125

Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu Ser Leu
 130 135 140

Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala Gly Lys
 145 150 155 160

Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg Pro Asn
 165 170 175

His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His His Tyr
 180 185 190

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

Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu Tyr Pro
 210 215 220

Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr Leu Tyr
 225 230 235 240

Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile Pro Asp
 245 250 255

Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val Phe Thr
 260 265 270

Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr Thr Phe
 275 280 285

Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp Gly Thr
 290 295 300

Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile Lys Glu Tyr
 305 310 315 320

Met Asp Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala

325 330 335
 Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys Ile Arg
 340 345 350
 Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp Asn Phe
 355 360 365
 Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly Lys Pro
 370 375 380
 Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys Ser Cys
 385 390 395 400
 Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp Thr Asp
 405 410 415
 Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu
 420 425 430
 Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn Ala Ser
 435 440 445
 Pro Ser Thr
 450
 <210> 51
 <211> 435
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 51
 Met Ala Ala His Leu Leu Pro Ile Cys Ala Leu Phe Leu Thr Leu Leu
 1 5 10 15
 Asp Met Ala Gln Gly Phe Arg Gly Pro Leu Leu Pro Asn Arg Pro Phe
 20 25 30
 Thr Thr Val Trp Asn Ala Asn Thr Gln Trp Cys Leu Glu Arg His Gly

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

Lys Ser Gln Met Tyr Val Gln His Arg Val Ala Glu Ala Phe Arg Val
260 265 270

Ala Val Ala Ala Gly Asp Pro Asn Leu Pro Val Leu Pro Tyr Val Gln
275 280 285

Ile Phe Tyr Asp Thr Thr Asn His Phe Leu Pro Leu Asp Glu Leu Glu
290 295 300

His Ser Leu Gly Glu Ser Ala Ala Gln Gly Ala Ala Gly Val Val Leu
305 310 315 320

Trp Val Ser Trp Glu Asn Thr Arg Thr Lys Glu Ser Cys Gln Ala Ile
325 330 335

Lys Glu Tyr Met Asp Thr Thr Leu Gly Pro Phe Ile Leu Asn Val Thr
340 345 350

Ser Gly Ala Leu Leu Cys Ser Gln Ala Leu Cys Ser Gly His Gly Arg
355 360 365

Cys Val Arg Arg Thr Ser His Pro Lys Ala Leu Leu Leu Leu Asn Pro
370 375 380

Ala Ser Phe Ser Ile Gln Leu Thr Pro Gly Gly Gly Pro Leu Ser Leu
385 390 395 400

Arg Gly Ala Leu Ser Leu Glu Asp Gln Ala Gln Met Ala Val Glu Phe
405 410 415

Lys Cys Arg Cys Tyr Pro Gly Trp Gln Ala Pro Trp Cys Glu Arg Lys
420 425 430

Ser Met Trp
435

Fig. 1

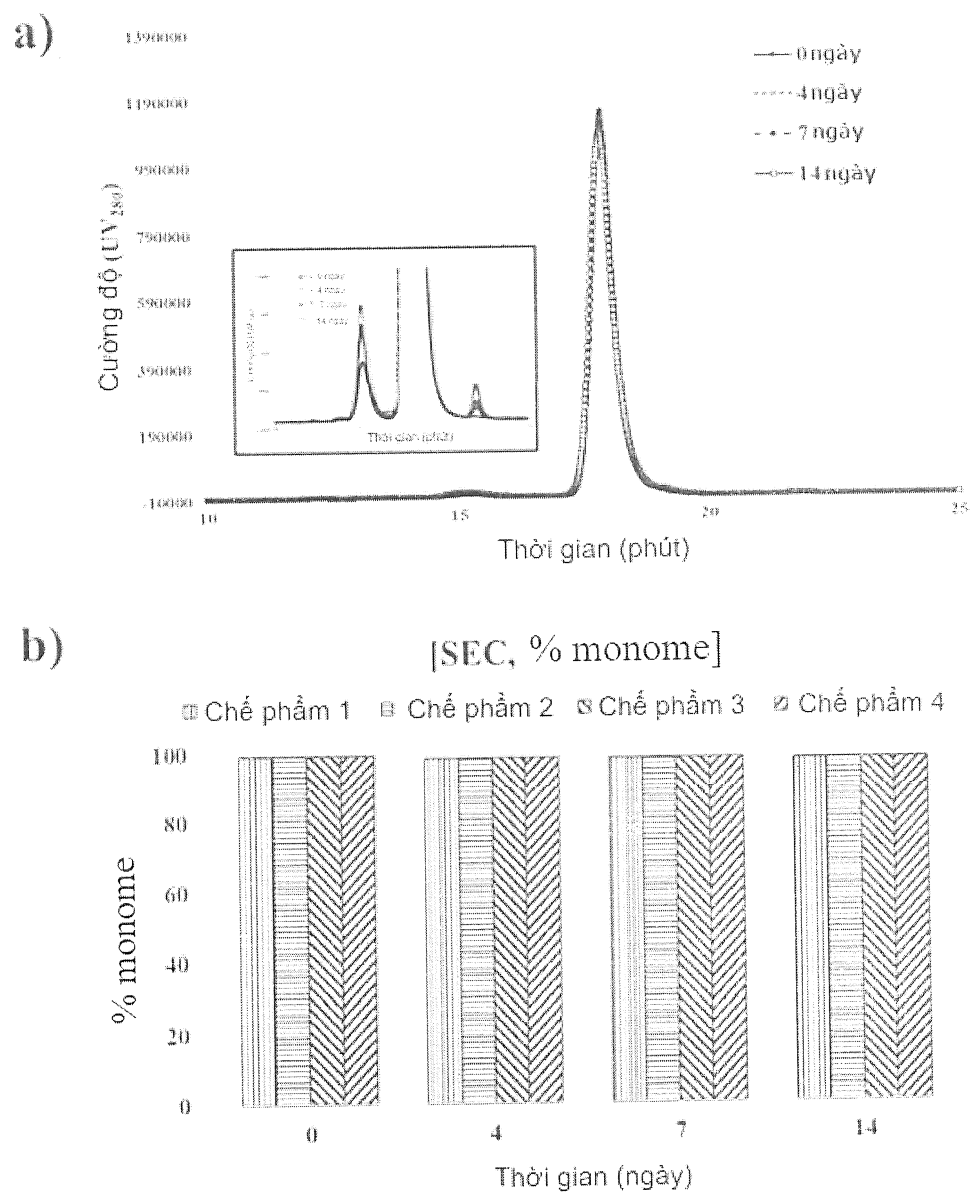


Fig. 2

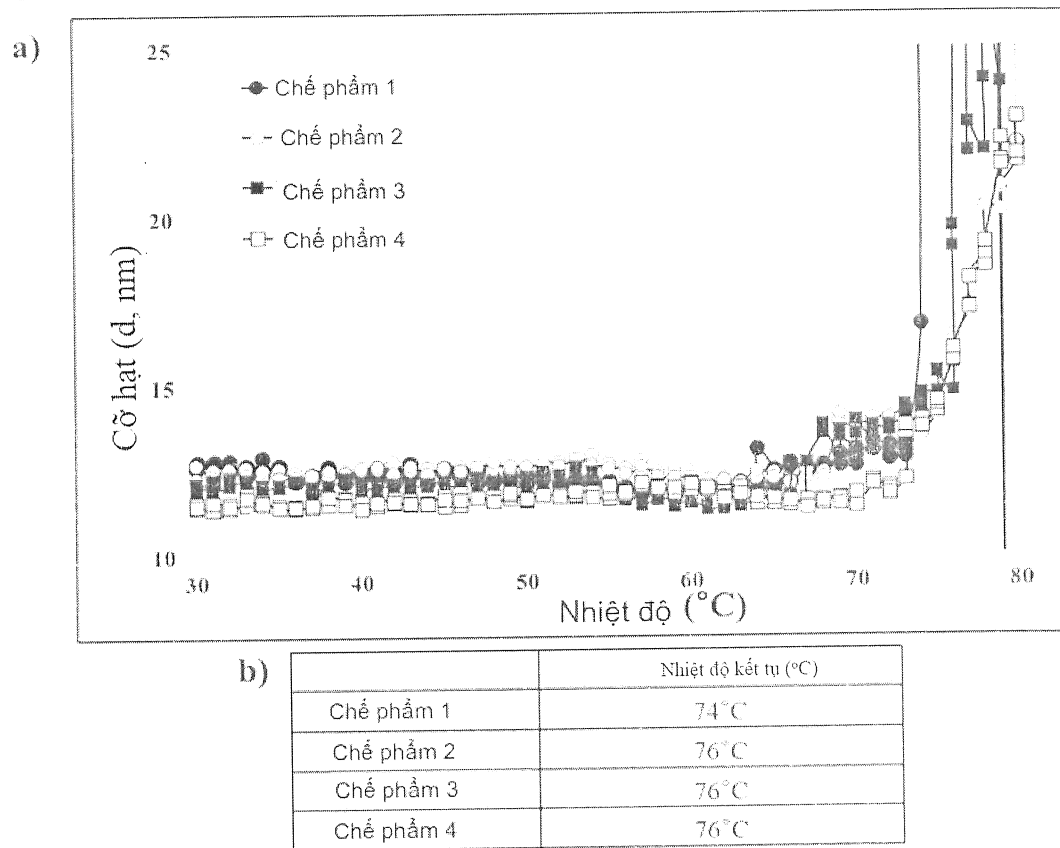


Fig. 3

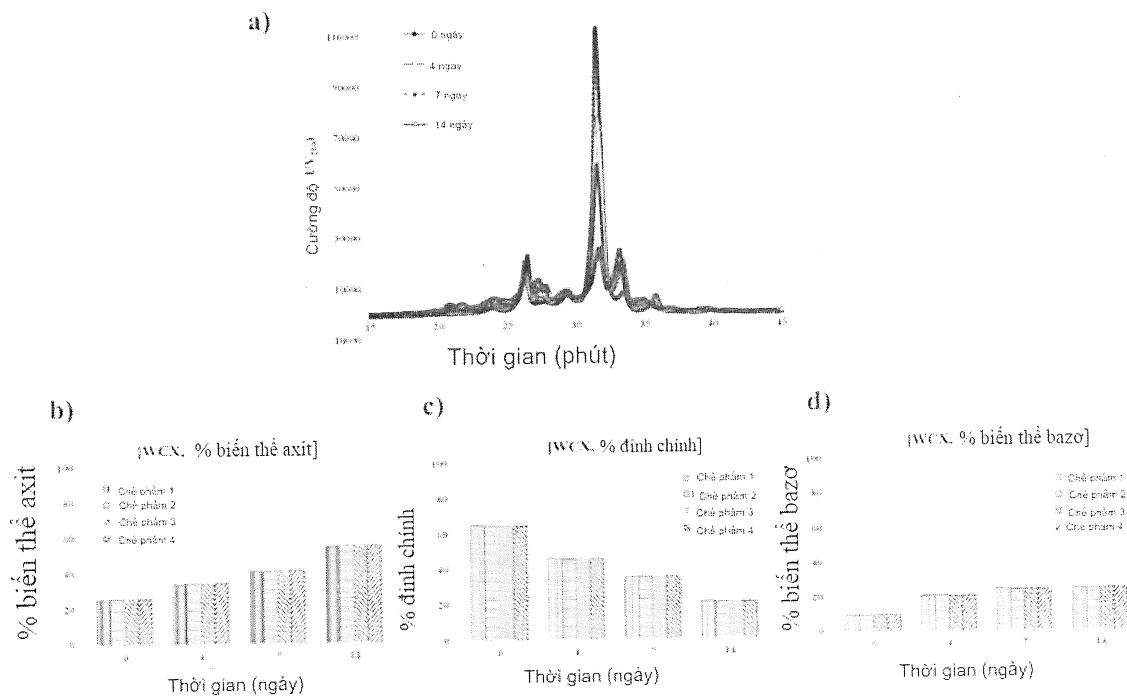


Fig. 4

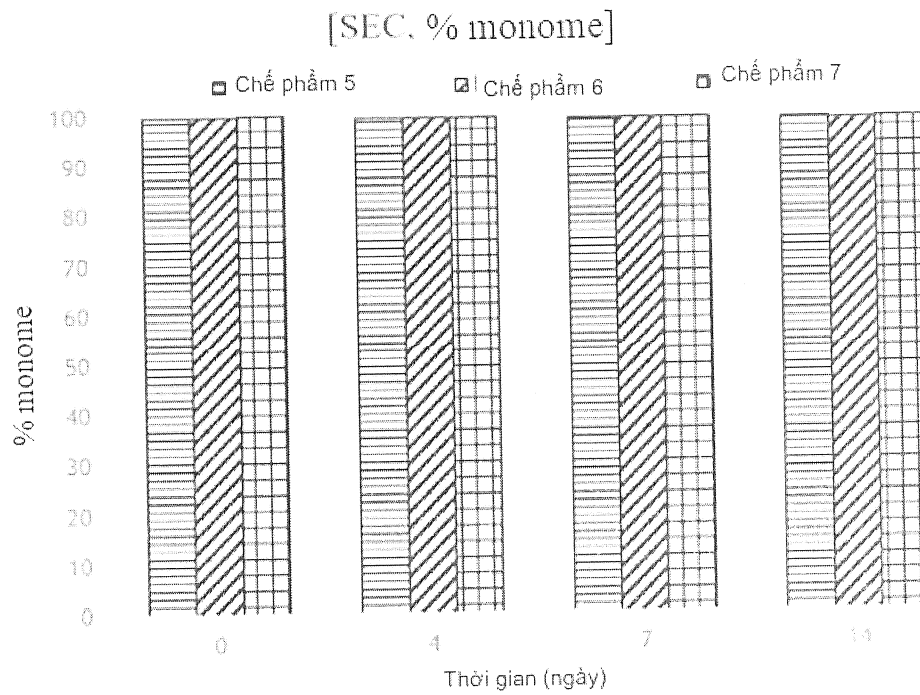


Fig.5

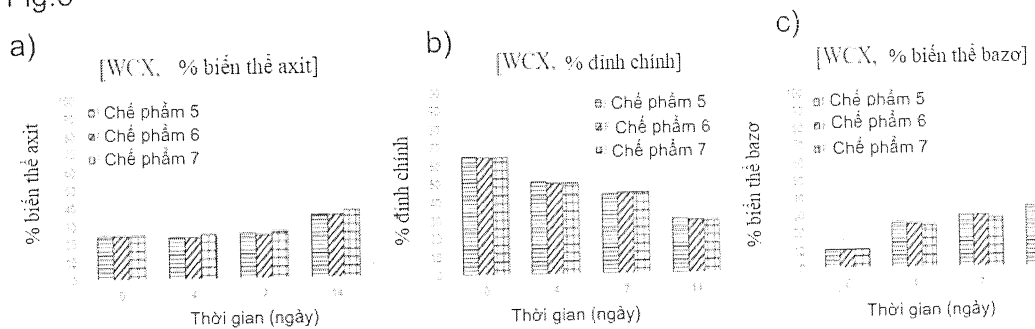


Fig. 6

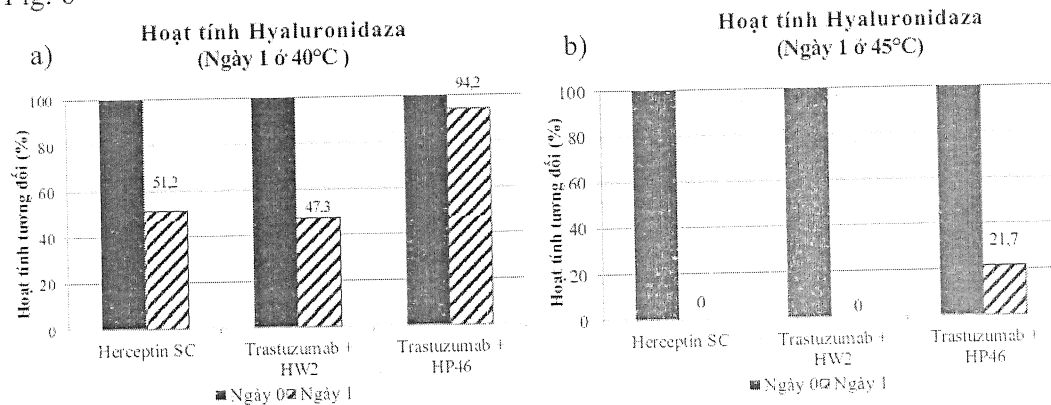


Fig. 7

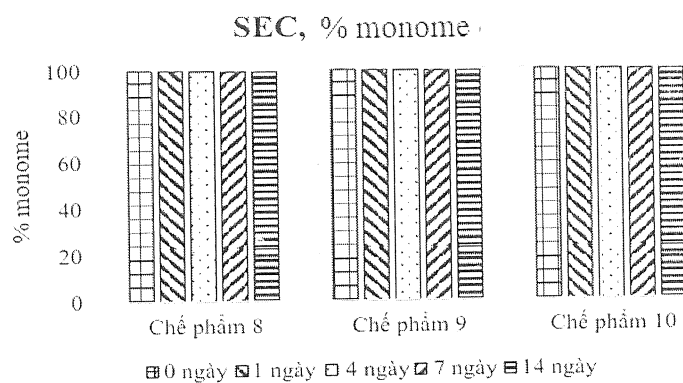
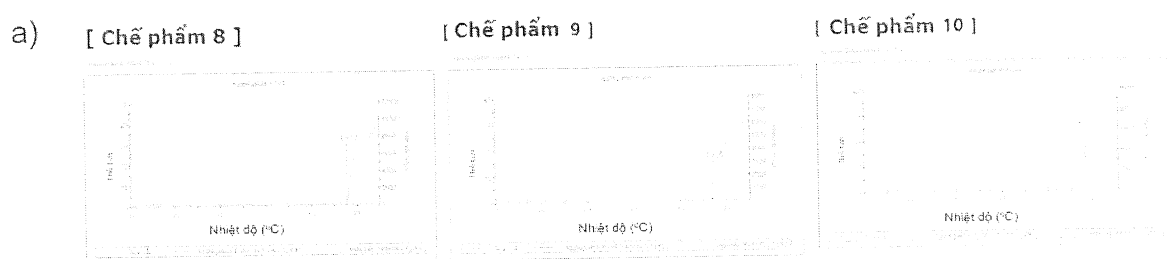


Fig.8



(b)

	1	2	3	Trung bình	STDEV	%RSD
Chế phẩm 8	78°C	79°C	78°C	78,3°C	0,6	0,7
Chế phẩm 9	78°C	77°C	77°C	77,3°C	0,6	0,7
Chế phẩm 10	77°C	78°C	78°C	77,7°C	0,6	0,7

Fig.9

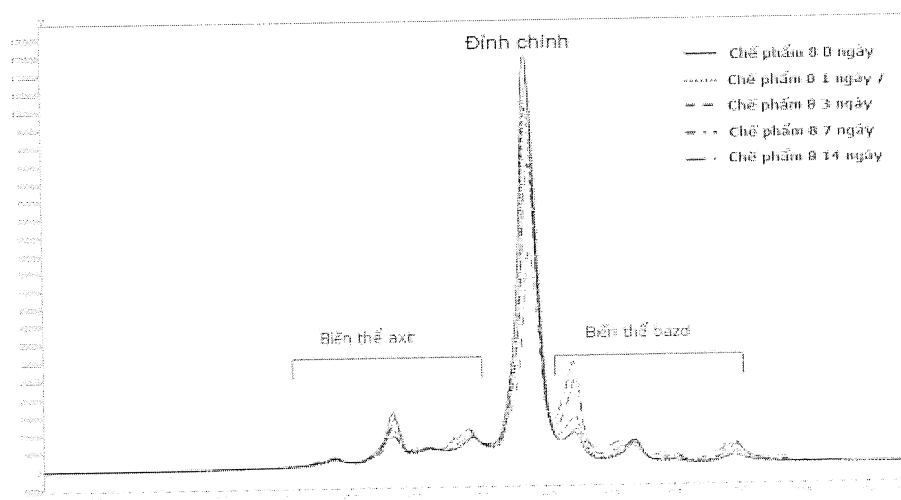


Fig.9b

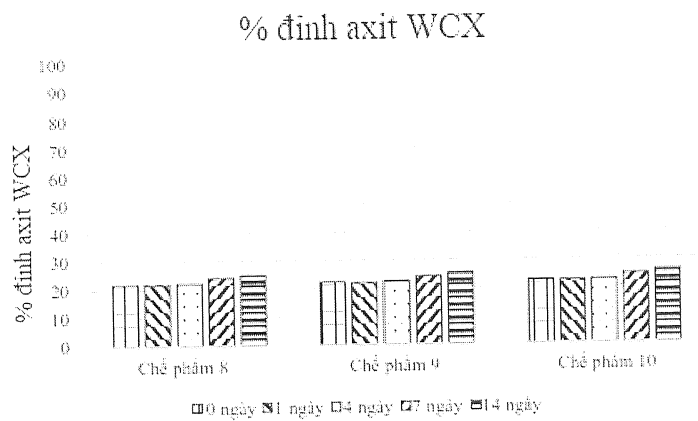


Fig.9c

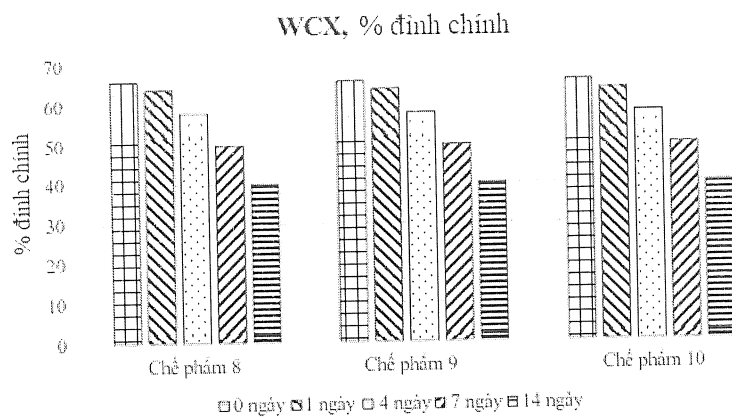


Fig.9d

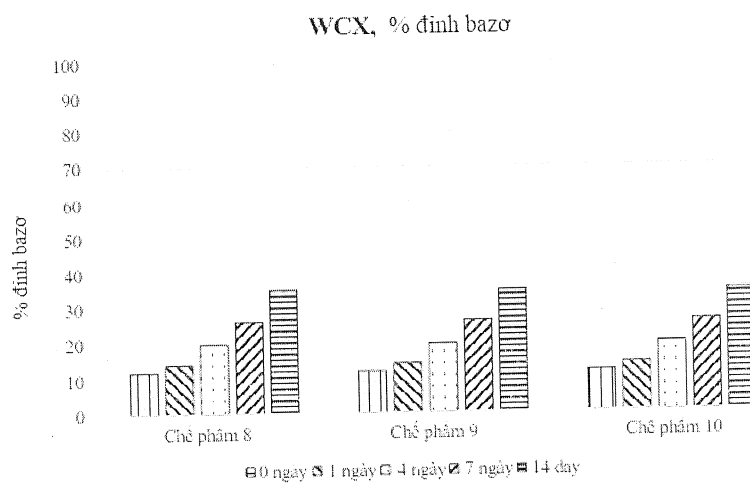


Fig.10

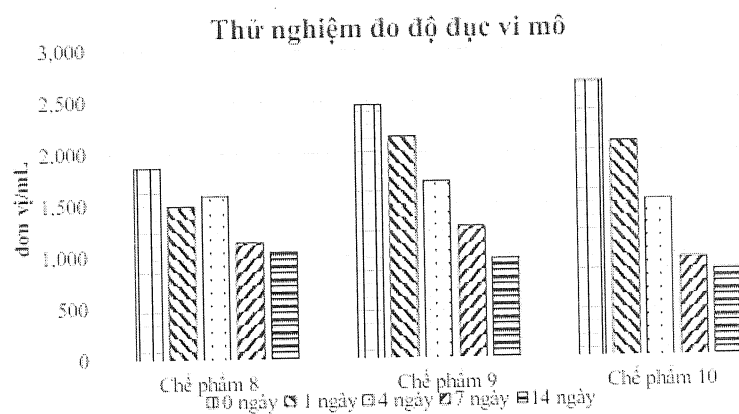


Fig.11

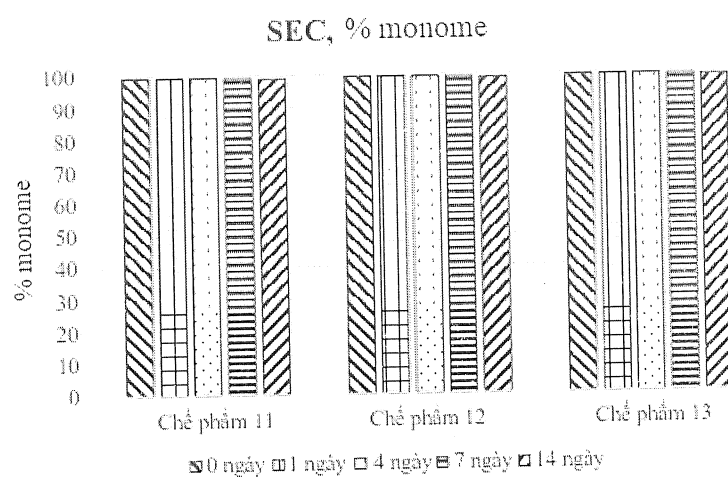


Fig. 12a

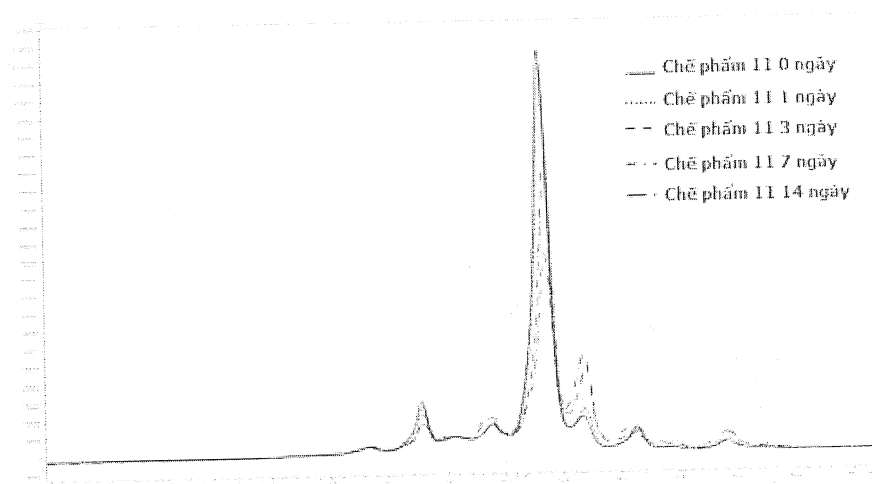


Fig. 12b

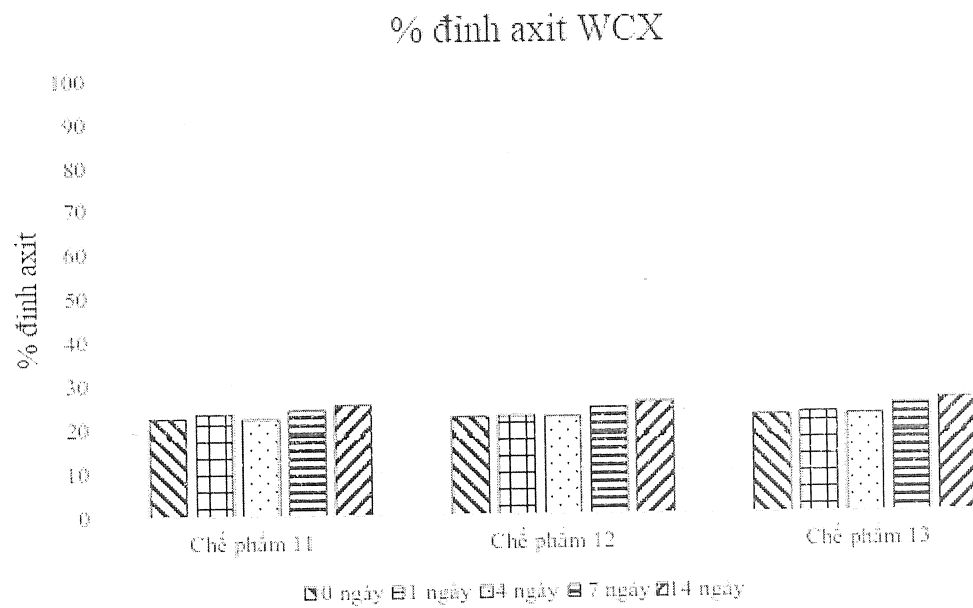


Fig. 12c

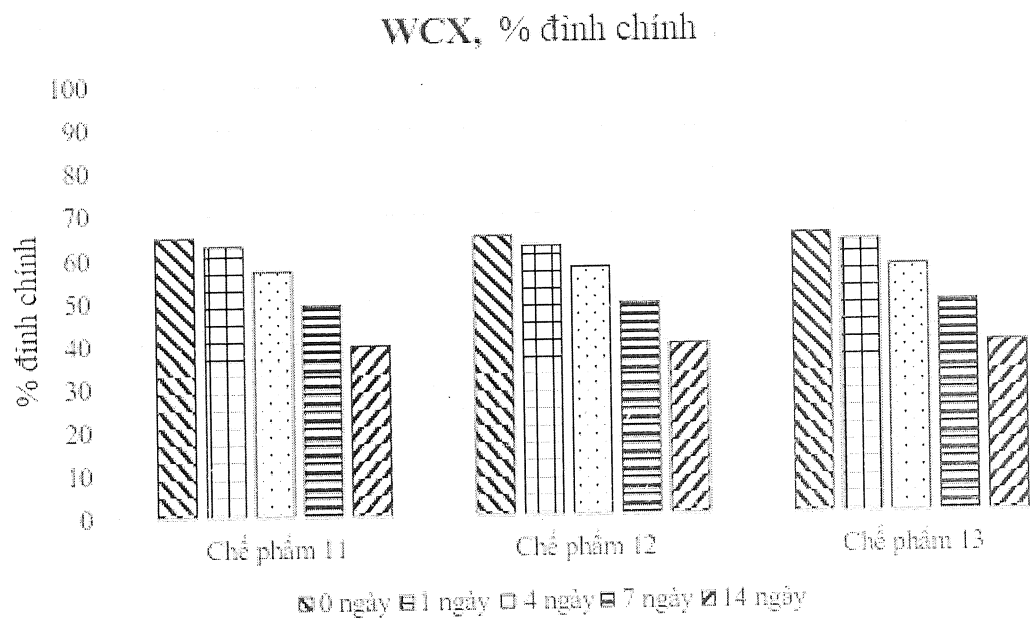


Fig. 12d

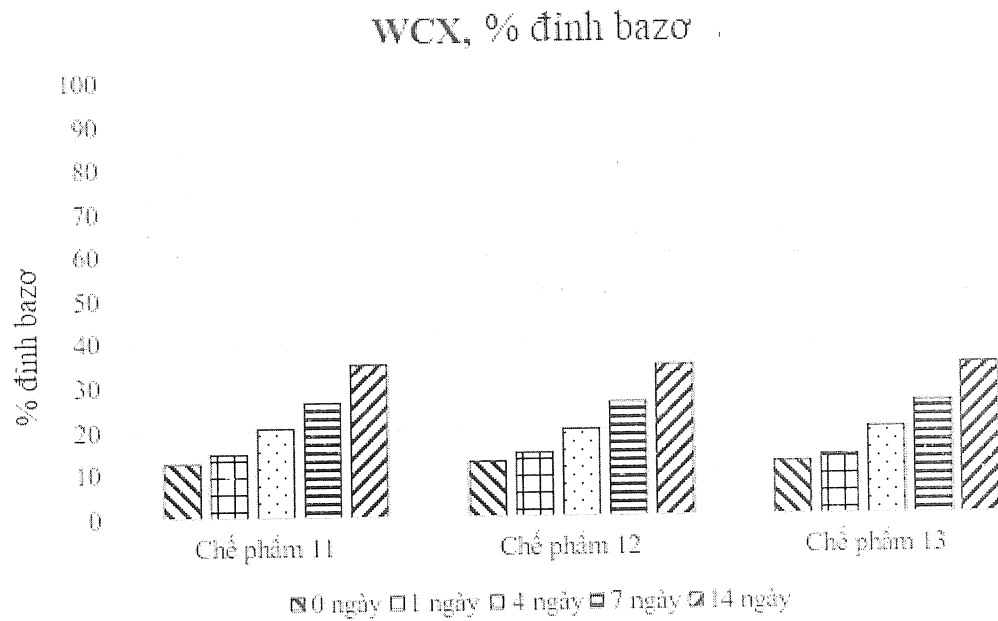


Fig.13

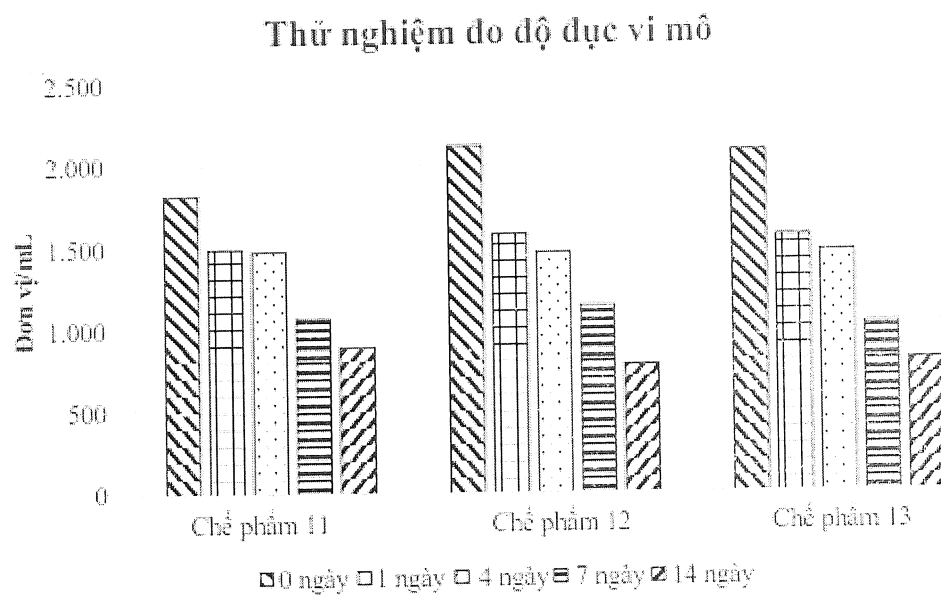


Fig. 14

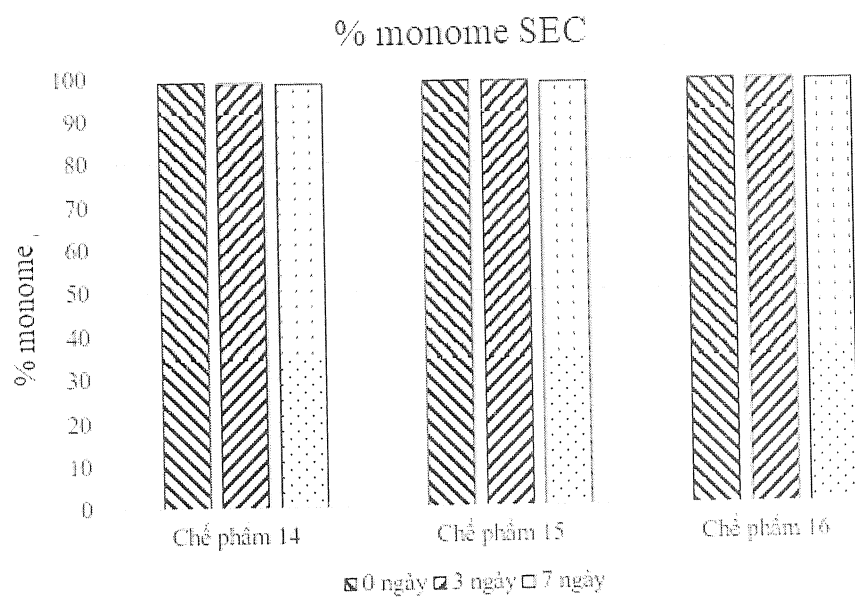


Fig.15

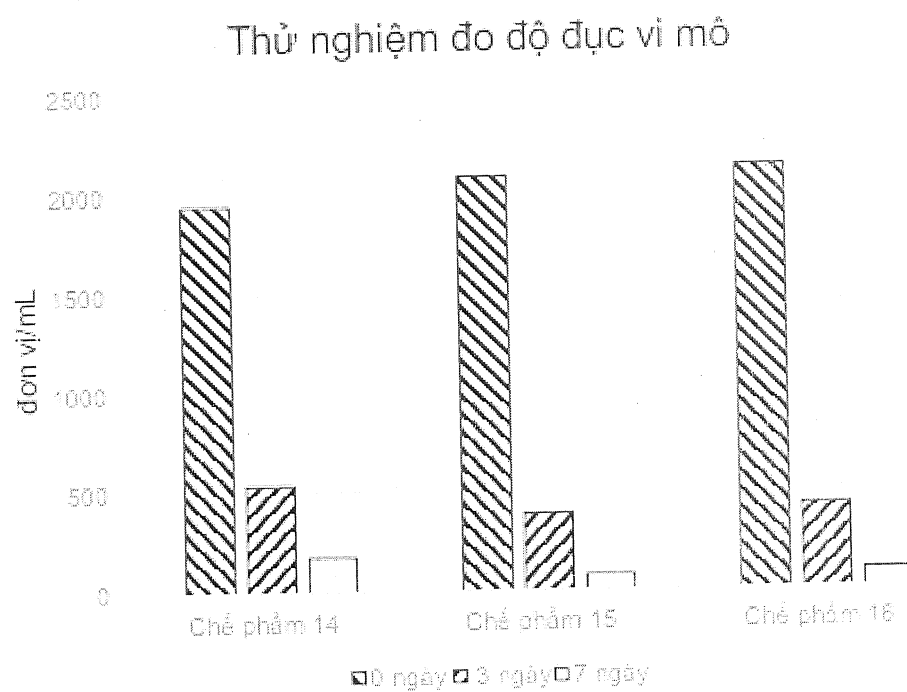


Fig. 16

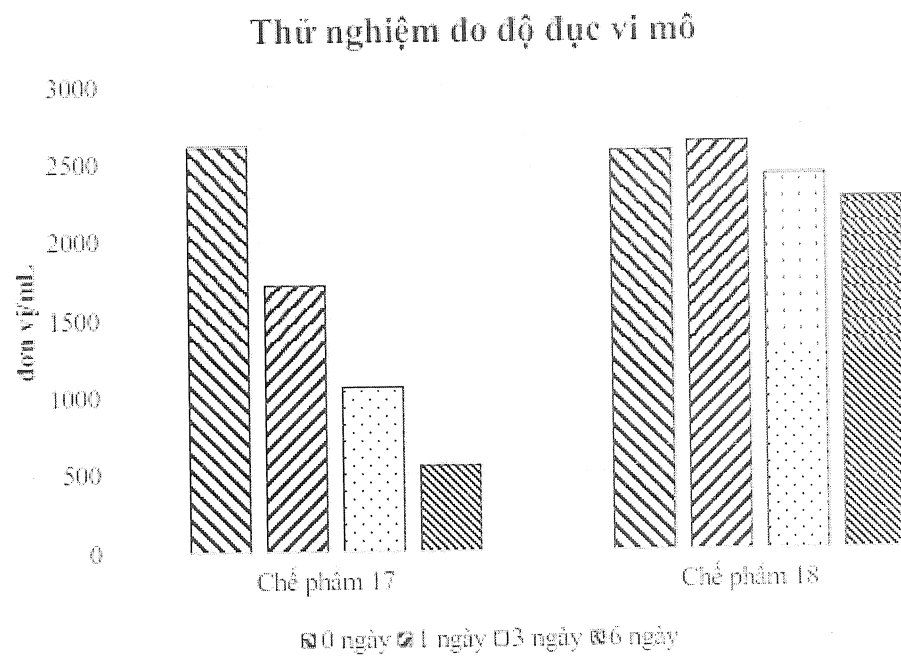


Fig.17

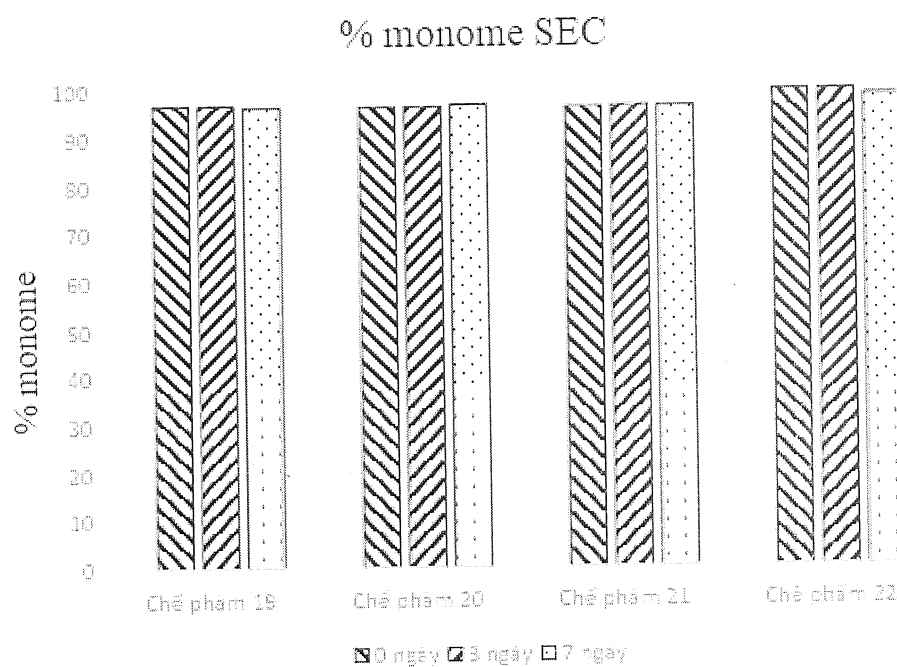


Fig. 18

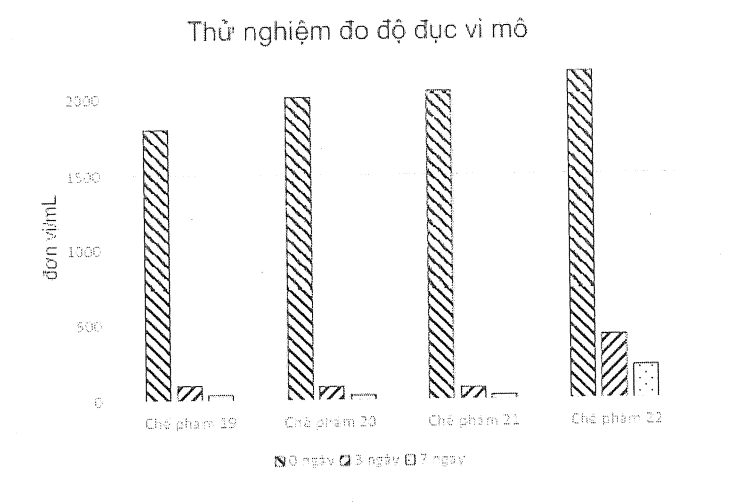


Fig.19

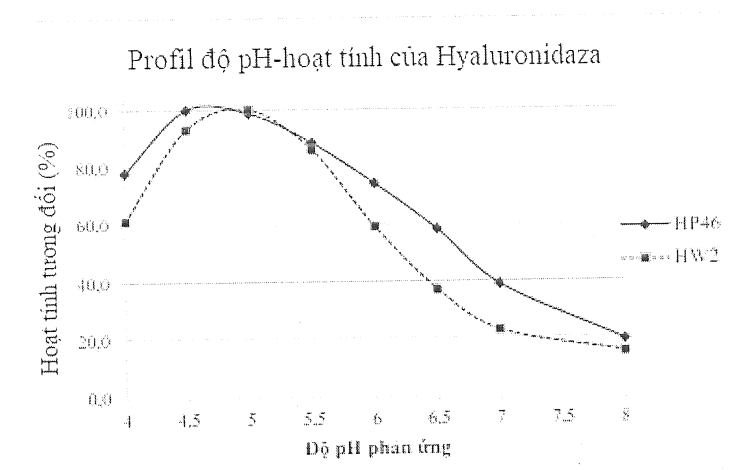


Fig. 20

