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

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

(11) **1-0053571**

(51)[2020.01] **A61K 38/18**; A61K 47/64; C12N 15/63; C07K 14/575; C07K 14/765; C12N 15/11; A61K 38/22; C07K 14/495

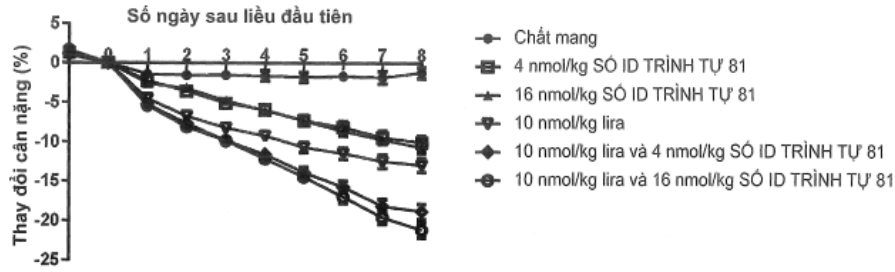
(13) **B**

(21) 1-2021-02859
(22) 22/10/2019
(86) PCT/IB2019/059029 22/10/2019
(87) WO2020/084496 30/04/2020
(30) 62/748,603 22/10/2018 US
(45) 25/11/2025 452
(43) 25/10/2021 403A
(73) JANSSEN PHARMACEUTICA NV (BE)
Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Belgium
(72) MULLICAN, Shannon (US); LIN-SCHMIDT, Xiefan (US); HUANG, Chichi (US); FURMAN, Jennifer (US); ZHENG, Songmao (CN); RANGWALA, Shamina (US); NELSON, Serena M. (US); RANKIN, Matthew M. (US).
(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)

(54) PROTEIN DUNG HỢP YẾU TỐ BIỆT HÓA TĂNG TRƯỞNG 15 (GDF15)-PEPTIT GIỐNG NHƯ GLUCAGON 1 (GLP1) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA CHÚNG

(21) 1-2021-02859

(57) Sáng chế đề xuất protein dung hợp protein dung hợp yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15)-peptit giống như glucagon 1 (GLP1)bao gồm GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1, peptit cầu nối thứ nhất, protein albumin huyết thanh, peptit cầu nối thứ hai và protein GDF15. Sáng chế cũng đề cập đến các axit nucleic đã phân lập, các vectơ, các tế bào chủ, các dược phẩm, các kit, các phương pháp sản xuất dược phẩm và các phương pháp sản xuất protein.



HÌNH 1

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế nhìn chung đề cập đến protein dung hợp yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15)-peptit giống như glucagon mới 1 (GLP1). Protein dung hợp GLP1-GDF15 điều hòa GLP1R và/hoặc GDF15R. Sáng chế cũng đề cập đến các dược phẩm và các phương pháp sử dụng chúng. Các protein dung hợp GLP1-GDF15 mới hữu ích trong việc phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện bệnh và các rối loạn như bệnh béo phì, đái tháo đường tuýp 2, hội chứng chuyển hóa, kháng insulin và rối loạn mỡ máu, bên cạnh các bệnh khác.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

GDF15 - thành phần trong họ TGFβ - là protein được tiết ra lưu thông trong huyết tương dưới dạng đồng đime 25 kDa và tạo ra chức năng sinh học của nó thông qua tương tác với thụ thể biểu hiện thân não GFRAL (Mullican và cộng sự, Nat Med (Tạp chí Y khoa tự nhiên)). 23:1150-7 (2017), Yang và cộng sự, Nat Med (Tạp chí Y khoa tự nhiên). 23:1158-66 (2017), Hsu và cộng sự, Nature 550:255-9 (2017), Emmerson và cộng sự, Nat Med (Tạp chí Y khoa tự nhiên) 23:1215-9 (2017)). Nồng độ GDF15 trong huyết tương ở trong khoảng 150 và 1150 pg/ml ở hầu hết các cá nhân (Tsai và cộng sự, J Cachexia Sarcopenia Muscle (*Tạp chí về Cơ, Chứng suy mòn và Chứng teo cơ)* - 3:239-43 (2012)). Sự tăng nồng độ GDF15 trong huyết tương liên quan đến tình trạng giảm cân do chán ăn và suy mòn khi bị ung thư, suy thận và suy tim. Ngoài ra, GDF15 tăng lên ở những bệnh nhân bị sụt cân sau phẫu thuật nối tắt dạ dày kiểu Roux-en-Y (RYGB) (Vila và cộng sự, Clin Chem (Hóa học lâm sàng) 57:309-16 (2011)).

Mối tương quan giữa giảm cân và GDF15 được duy trì ở loài gặm nhấm. Sự biểu hiện quá mức của GDF15 dẫn đến giảm lượng thu nạp thức ăn, giảm cân nặng và chuột không bị béo phì, gan nhiễm mỡ và không dung nạp glucoza khi cho ăn chế độ ăn nhiều chất béo (Baek và cộng sự, Vị tràng học 131:1553-60 (2006), Johnen và cộng sự, Nat Med 13:1333-40 (2007), Chrysovergis và cộng sự, Int J Obesity (Tạp chí Quốc tế về chứng béo phì) 38:1555-64 (2014), Macia và cộng sự, PloS One 7:e34868 (2012), Jones và cộng sự, Cell Reports (Báo cáo tế bào) 22:1522-30 (2018), Xiong và cộng sự,

Sci Trans Med (Khoa học chuyển đổi Y học) 9:412 (2017)). Ghép ngoại lai các tế bào khối u tuyến tiền liệt được chuyển nhiễm bằng GDF15 cũng làm giảm lượng thu nạp thức ăn và cân nặng (Johnen và cộng sự, Nat Med (Tạp chí Nature Medicine) 13:1333-40 (2007)). Ngược lại, nhiều điều tra viên đã báo cáo rằng những con chuột thiếu GDF15 sẽ tăng cân hơn và có khối lượng mỡ lớn hơn động vật hoang dã (Strelau và cộng sự, J Neurosci (Tạp chí Khoa học Thần kinh) 29:13640-8 (2009), Casanovas và cộng sự, Haematologica (Huyết học) 98:444-7 (2013), Bonaterra và cộng sự, J Amer Heart Assoc (Tạp chí của Hiệp hội Tim mạch Hoa Kỳ) 1:e002550 (2012), Tsai và cộng sự, PloS one. 8:e55174 (2013)).

Tiềm năng của GDF15 được cho dùng theo dược lý để giảm năng lượng nạp vào và do đó giúp giảm cân nặng đã được chứng minh ở chuột nhắt, chuột cống và khỉ. Những con chuột gầy được điều trị bằng GDF15 tái tổ hợp ăn ít hơn và cân nặng giảm (Johnen và cộng sự, Nat Med (Tạp chí Nature Medicine) 13:1333-40 (2007), Hsu và cộng sự, Nature (Tạp chí Nature Medicine) 550:255-9 (2017), Mullican và cộng sự, Nat Med (Tạp chí Nature Medicine) 23:1150-7 (2017), Tsai và cộng sự, Int J Obesity (Tạp chí Quốc tế về chứng béo phì) 42:561–71 (2018)). Lượng thu nạp thức ăn và cân nặng giảm được quan sát thấy ở các mẫu chuột nhắt và chuột cống bị béo phì do di truyền và chế độ ăn sau khi dùng GDF15 (Johnen và cộng sự, Nat Med (Tạp chí Nature Medicine) 13:1333-40 (2007), Hsu và cộng sự, Nature (Tạp chí Nature Medicine) 550:255-9 (2017), Mullican và cộng sự, Nat Med 23:1150-7 (2017), Yang và cộng sự, Nat Med (Tạp chí Nature Medicine) 23:1158-66 (2017), Tsai và cộng sự, Int J Obesity (Tạp chí Quốc tế về chứng béo phì) 42:561–71 (2018), Xiong và cộng sự, Sci Trans Med (Khoa học chuyển đổi Y học) 9:412 (2017)). Giảm cân qua trung gian điều trị GDF15 ở chuột bị béo phì do chế độ ăn giúp cải thiện trao đổi chất, bao gồm tăng cường cân bằng nội môi glucoza và giảm triglyxerit và cholesterol trong huyết tương. Những tác động này chuyển sang các loài cao hơn khi chế độ điều trị hàng ngày kéo dài sáu tuần bằng GDF15 người tái tổ hợp ở động vật linh trưởng không phải người bị béo phì tự phát làm giảm lượng thu nạp thức ăn, cân nặng và nồng độ triglyxerit trong huyết tương và cải thiện khả năng dung nạp glucoza (Xiong và cộng sự, Sci Trans Med (Khoa học chuyển đổi Y học) 9:412 (2017)). Ngoài ra, thời gian bán thải của GDF15 tái tổ hợp trước đây đã được chứng minh là dài hơn khi dung hợp với albumin huyết thanh người (HSA) và được dự đoán là liệu pháp phù hợp với liều mỗi tuần một lần ở người (Mullican và cộng sự, Nat

Med (Tạp chí Nature Medicine) 23:1150-7 (2017) và Số công bố bằng sáng chế Hoa Kỳ 2017/0327560.

GLP1 là hormon peptit có nguồn gốc từ các tế bào nội tiết của ruột cũng làm giảm lượng thu nạp thức ăn, dẫn đến giảm cân nặng. Chức năng này được thực hiện qua trung gian tương tác với thụ thể GLP1 (GLP1R) trong hệ thần kinh trung ương, và tương tác phối tử/thụ thể này trong mô ngoại vi có thêm tác dụng sinh học, bao gồm tăng tiết insulin do glucoza kích thích, ức chế sự giải phóng glucagon và làm chậm quá trình làm rỗng dạ dày (Druker và cộng sự, Cell Met (Chuyển hóa tế bào) 27:740-56 (2018)). Bằng cách sử dụng tất cả các tác dụng sinh học này, chất chủ vận GLP1R cải thiện cân bằng nội môi glucoza và thúc đẩy giảm cân ở người. Ngoài ra, việc điều trị bằng chất chủ vận GLP1R được báo cáo là cải thiện đáng kể hậu quả về tim mạch ở bệnh nhân đái tháo đường, mặc dù cơ chế chính xác vẫn chưa được xác định (Lim và cộng sự, Trends Endocrinol Metab (Tạp chí Xu hướng về Nội tiết & Chuyển hóa) 29:238-48 (2018)). Phương pháp điều trị chất chủ vận GLP1R là các trình tự peptit dựa trên GLP1 của người tự nhiên hoặc exenđin-4 (peptit được phân lập từ nước bọt của thằn lằn khổng lồ Gila) có các biến đổi để ngăn chặn sự phân cắt bằng enzym. Chất chủ vận GLP1R có thể được phân phối thông qua các nền kéo dài thời gian bán thải như liên kết với chất béo (lipidation), kháng thể Fc hoặc albumin huyết thanh người (HSA) (Cheang and Moyle, Chem Med Chem (Tạp chí ChemMedChem) 13:662-71 (2018)).

Do đó, mong muốn thu được chất tương tự GLP1 hoặc chất dẫn xuất của chúng và/hoặc chất tương tự GDF15 hoặc chất dẫn xuất của chúng với độ ổn định chuyển hóa và mức dược động học được cải thiện so với GLP1 hoặc GDF15, tương ứng. Các chất dẫn xuất này sẽ điều hòa thụ thể GDF15 và thụ thể GLP1 với thời gian tác dụng lâu hơn, khiến chúng phù hợp làm thuốc điều trị cho các đối tượng cần sự điều hòa này.

Phần trình bày trên đây chỉ nhằm giúp hiểu thêm về bản chất của các vấn đề tồn tại trong ngành, và không nên hiểu là sự thừa nhận rằng tài liệu tham chiếu này cấu thành "kỹ thuật trước đây" đối với đơn xin cấp bằng sáng chế này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một phương án chung, sáng chế đề cập đến protein dung hợp yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15)-peptit giống như glucagon mới 1 (GLP1). Protein dung hợp GLP1-GDF15 điều hòa GLP1R và/hoặc GDF15R (GFRAL).

Sáng chế đề xuất protein dung hợp yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15)-peptit giống như glucagon 1 (GLP1). Protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm peptit GLP1, peptit cầu nối thứ nhất, protein albumin huyết thanh, peptit cầu nối thứ hai và protein GDF15.

Theo một số phương án, peptit GLP1 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SỐ ID TRÌNH TỰ:1-4.

Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ nhất bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SỐ ID TRÌNH TỰ:5-25.

Theo một số phương án, protein albumin huyết thanh bao gồm trình tự axit amin được chọn từ SỐ ID TRÌNH TỰ:26 hoặc SỐ ID TRÌNH TỰ:27.

Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SỐ ID TRÌNH TỰ:28-30.

Theo một số phương án, protein GDF15 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ SỐ ID TRÌNH TỰ:31 hoặc SỐ ID TRÌNH TỰ:32.

Theo một số phương án, protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SỐ ID TRÌNH TỰ:33-74 và 84.

Sáng chế cũng đề xuất các axit nucleic được phân lập mã hóa protein dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế. Sáng chế cũng đề xuất các vectơ bao gồm các axit nucleic được phân lập theo sáng chế. Sáng chế cũng đề xuất các tế bào chủ chứa axit nucleic được phân lập theo sáng chế hoặc vectơ theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất dược phẩm chứa protein dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế và chất mang dược dụng.

Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng cần điều trị, trong đó bệnh hoặc rối loạn này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh béo phì, tiểu đường tuýp I hoặc tuýp II, hội chứng chuyển hóa, kháng insulin, suy giảm dung nạp glucoza, tăng đường huyết, tăng insulin huyết, tăng triglixerit huyết, giảm glucoza huyết do tăng insulin huyết bẩm sinh (CHI), rối loạn mỡ máu, xơ vữa động mạch, bệnh thận do tiểu đường và các yếu tố nguy cơ tim mạch khác như tăng huyết áp và yếu tố nguy cơ tim mạch liên quan đến nồng độ cholesterol và/hoặc lipit không được kiểm soát, loãng xương, viêm, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh thận và bệnh chàm,

phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu dược phẩm theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp giảm lượng thu nạp thức ăn ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu dược phẩm theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp điều hòa hoạt tính thụ thể GLP1 ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu dược phẩm theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp điều hòa hoạt tính thụ thể GDF15 (GFRAL) ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu dược phẩm theo sáng chế.

Theo một số phương án, dược phẩm được cho sử dụng bằng cách tiêm.

Sáng chế cũng đề xuất các bộ dụng cụ bao gồm protein dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế, các axit nucleic được phân lập theo sáng chế và/hoặc các vectơ theo sáng chế. Bộ dụng cụ có thể, ví dụ, còn bao gồm dụng cụ tiêm.

Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp sản xuất dược phẩm bao gồm protein dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế. Các phương pháp này bao gồm bước kết hợp protein dung hợp GLP1-GDF15 với chất mang dược dụng để thu được dược phẩm.

Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp sản xuất protein dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế. Các phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chứa axit nucleic mã hóa protein dung hợp GLP1-GDF15 trong điều kiện để có thể tạo ra protein dung hợp GLP1-GDF15, và bước thu hồi protein dung hợp GLP1-GDF15 từ tế bào hoặc từ việc nuôi cấy.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Bản chất kỹ thuật của sáng chế nêu trên, cũng như phần mô tả chi tiết sau đây của các phương án ưu tiên của đơn này, sẽ được hiểu rõ hơn khi tham khảo các hình vẽ kèm theo. Tuy nhiên, cần hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn trong các phương án chính xác được minh họa trong các hình vẽ.

Hình 1 minh họa đồ thị diễn tả sự thay đổi trọng lượng theo phần trăm (từ ngày 0) ở chuột DIO được cho dùng Liraglutit (lira) hàng ngày và/hoặc dùng HSA-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:81) hai ngày một lần.

Hình 2 minh họa đồ thị diễn tả sự thay đổi trọng lượng trung bình theo phần trăm (từ ngày 0) ở chuột DIO được cho dùng hàng ngày GLP1-GSA-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:72), GLP1-GSA-GDF15(I89R) (SỐ ID TRÌNH TỰ:73, đột biến I89R loại bỏ hoạt tính GDF15), GLP1(9-39)-GSA-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:74, loại bỏ hoạt tính GLP1) hoặc GSA-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:75). Điều trị bằng Dulaglutit có vai trò là đối chứng dương, còn điều trị bằng chất mang có vai trò là đối chứng âm. + SEM, n = 8.

Hình 3 minh họa sơ đồ về protein dung hợp GLP1-GDF15.

Hình 4 minh họa đồ thị diễn tả tác dụng khi sử dụng dưới da của các SỐ ID TRÌNH TỰ:45, 49, 50, 33, 46 và 44 đối với lượng thu nạp thức ăn ở chuột C57BL/6. Dữ liệu được trình bày dưới dạng phần trăm thay đổi trong lượng thu nạp thức ăn so với lượng thu nạp thức ăn trước điều trị ở 24 giờ.

Hình 5 minh họa đồ thị diễn tả nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 trong huyết tương (các SỐ ID TRÌNH TỰ:45, 49, 50, 33, 46 và 44) ở 24 giờ sau khi cho chuột dùng, được xác định bằng cách phân tích LC-MS/MS thủy phân ái lực miễn dịch bắt trypsin.

Hình 6 minh họa đồ thị diễn tả tác dụng khi sử dụng dưới da của các SỐ ID TRÌNH TỰ:45, 50, 46 và 44 đối với lượng thu nạp thức ăn ở chuột thiếu GFRAL. Dữ liệu được trình bày dưới dạng phần trăm thay đổi trong lượng thu nạp thức ăn (so với điều trị bằng chất mang) so với nồng độ thành phần thử nghiệm trong huyết tương với các nhánh GLP1 nguyên vẹn ở 24 giờ.

Hình 7 minh họa đồ thị diễn tả tác dụng khi sử dụng dưới da của SỐ ID TRÌNH TỰ:45 đối với lượng thu nạp thức ăn ở chuột thiếu GFRAL. Dữ liệu được trình bày dưới dạng phần trăm thay đổi trong lượng thu nạp thức ăn (so với điều trị bằng chất mang) so với nồng độ thành phần thử nghiệm trong huyết tương với các nhánh GLP1 nguyên vẹn ở 24 giờ.

Hình 8 minh họa đồ thị diễn tả tác dụng khi sử dụng dưới da của SỐ ID TRÌNH TỰ:33 đối với lượng thu nạp thức ăn ở chuột thiếu GFRAL. Dữ liệu được trình bày dưới dạng phần trăm thay đổi trong lượng thu nạp thức ăn (so với điều trị bằng chất mang) so với nồng độ thành phần thử nghiệm trong huyết tương với các nhánh GLP1 nguyên vẹn ở 24 giờ.

Hình 9 minh họa đồ thị diễn tả tác dụng khi sử dụng dưới da của các SỐ ID TRÌNH TỰ:50, 46 và 44 về khả năng dung nạp glucoza ở chuột. Dữ liệu được trình bày dưới dạng

phần trăm thay đổi trong delta AUC so với điều trị bằng chất mang, so với nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 trong huyết tương có peptit GLP1 nguyên vẹn hoặc các biến thể peptit GLP1.

Hình 10 minh họa đồ thị diễn tả tác dụng khi sử dụng dưới da của các SỐ ID TRÌNH TỰ:45 và 49 về khả năng dung nạp glucoza ở chuột. Dữ liệu được trình bày dưới dạng phần trăm thay đổi trong delta AUC so với điều trị bằng chất mang, so với nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 trong huyết tương có peptit GLP1 nguyên vẹn hoặc các biến thể peptit GLP1.

Hình 11 minh họa đồ thị diễn tả tác dụng khi sử dụng dưới da của SỐ ID TRÌNH TỰ:33 về khả năng dung nạp glucoza ở chuột. Dữ liệu được trình bày dưới dạng phần trăm thay đổi trong delta AUC so với điều trị bằng chất mang, so với nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 trong huyết tương có peptit GLP1 nguyên vẹn hoặc các biến thể peptit GLP1.

Hình 12 minh họa đồ thị diễn tả tác dụng khi sử dụng dưới da của SỐ ID TRÌNH TỰ:45 và SỐ ID TRÌNH TỰ:36 về khả năng dung nạp glucoza ở chuột. Dữ liệu được trình bày dưới dạng phần trăm thay đổi trong delta AUC so với điều trị bằng chất mang, so với nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 trong huyết tương có peptit GLP1 nguyên vẹn hoặc các biến thể peptit GLP1.

Hình 13 minh họa đồ thị diễn tả tác dụng khi sử dụng dưới da của các SỐ ID TRÌNH TỰ:45 và 44 về sự tiết insulin trong quá trình truyền glucoza được phân loại ở khỉ đuôi dài. Dữ liệu được trình bày dưới sự thay đổi định lượng trong ISR AUC được chuẩn hóa thành AUC glucoza (so với thời điểm khởi điểm) so với nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 trong huyết tương có peptit GLP1 nguyên vẹn hoặc các biến thể peptit GLP1.

Hình 14 minh họa đồ thị diễn tả hiệu quả giảm cân khi cho sử dụng dưới da hàng ngày protein dung hợp GLP1-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:45 và 44) ở chuột béo phì do chế độ ăn. Dữ liệu được trình bày dưới dạng phần trăm thay đổi ở cân nặng từ Ngày 0.

Hình 15 minh họa đồ thị diễn tả nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 trong huyết tương (SỐ ID TRÌNH TỰ:45 và 44) sau 7 ngày cho sử dụng hàng ngày ở chuột béo phì do chế độ ăn được xác định bằng phân tích LC-MS/MS -thủy phân ái lực miễn dịch bắt trypsin.

Hình 16 minh họa đồ thị diễn tả phần trăm thay đổi trong 3 ngày của lượng thu nạp thức ăn ở thời điểm khởi điểm, cũng như sau mỗi lần cho sử dụng dưới da QW protein dung hợp GLP1-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ: 44 và 83) trong 4 tuần ở động vật linh trưởng không phải người bị béo phì tự phát. Dữ liệu được trình bày cho từng đối tượng và các đối tượng không có mức thành phần thử nghiệm có thể phát hiện trong huyết tương của chúng sẽ không có trong hình như được thể hiện bên dưới trục x.

Hình 17 minh họa đồ thị diễn tả nồng độ của tổng thành phần thử nghiệm trong huyết tương trong quá trình điều trị 4 tuần với nhiều nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 khác nhau (SỐ ID TRÌNH TỰ: 44 và 83) được cho sử dụng QW ở động vật linh trưởng không phải người bị béo phì tự phát như được xác định bằng xét nghiệm miễn dịch. Dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình (± SEM).

Hình 18 minh họa đồ thị diễn tả nồng độ của thành phần thử nghiệm chứa gốc GLP1 trong huyết tương trong quá trình điều trị 4 tuần với nhiều nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 khác nhau (SỐ ID TRÌNH TỰ:44) được cho dùng QW ở động vật linh trưởng không phải người bị béo phì tự phát như được xác định bằng xét nghiệm miễn dịch. Dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình (± SEM).

Hình 19 minh họa đồ thị diễn tả lượng thu nạp thức ăn hàng ngày tuyệt đối trước, trong và sau điều trị 21 ngày với nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 tăng dần (SỐ ID TRÌNH TỰ: 44, 83 và 84) được cho sử dụng Q3D ở động vật linh trưởng không phải người bị béo phì tự phát. Dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình (± SEM) của mười đối tượng mỗi nhóm.

Hình 20 minh họa đồ thị diễn tả sự thay đổi cân nặng (so với đường cơ sở) sau khi điều trị 21 ngày với nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 tăng dần (SỐ ID TRÌNH TỰ: 44, 83 và 84) được cho sử dụng Q3D ở động vật linh trưởng không phải người bị béo phì tự phát. Dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình (± SEM) của mười đối tượng mỗi nhóm.

Hình 21 minh họa đồ thị diễn tả nồng độ của tổng thành phần thử nghiệm trong huyết tương trong và sau khi điều trị 21 ngày với nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 tăng dần (SỐ ID TRÌNH TỰ: 44, 83 và 84) được cho sử dụng Q3D ở động vật linh trưởng không phải người bị béo phì tự phát như được xác định bằng xét nghiệm miễn dịch. Dữ liệu được trình bày cho từng đối tượng.

Hình 22 minh họa đồ thị diễn tả nồng độ của gốc GLP1 trong huyết tương chứa thành phần thử nghiệm trong và sau khi điều trị 21 ngày với nồng độ protein dung hợp GLP1-GDF15 tăng dần (SỐ ID TRÌNH TỰ: 44 và 84) được cho dùng Q3D ở động vật linh trưởng không phải người bị béo phì tự phát như được xác định bằng xét nghiệm miễn dịch. Dữ liệu được trình bày cho từng đối tượng.

Mô tả chi tiết các phương án thực hiện sáng chế

Nhiều ấn phẩm, bài báo và bằng sáng chế được nêu hoặc được mô tả trong phần tình trạng kỹ thuật của sáng chế và trong toàn bộ bản mô tả; mỗi tham chiếu này được kết hợp đầy đủ vào tài liệu này bằng viện dẫn. Việc trình bày về tài liệu, hoạt động, vật liệu, thiết bị, thành phần, v.v. đã được đưa vào bản mô tả nhằm mục đích cung cấp ngữ cảnh của sáng chế. Việc trình bày này không có ý rằng vấn đề bất kỳ hoặc tất cả các vấn đề này là một phần của kỹ thuật trước đây liên quan đến sáng chế bất kỳ được bộc lộ hoặc được yêu cầu bảo hộ.

Trừ khi được quy định khác đi, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả này có cùng nghĩa thông thường theo hiểu biết của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế này có liên quan. Hoặc, các thuật ngữ nhất định được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa như đã nêu trong bản mô tả.

Cần lưu ý là khi được sử dụng trong bản mô tả này và trong các điểm yêu cầu bảo hộ, dạng số ít "một" bao gồm cả các số nhiều trừ khi ngữ cảnh quy định khác.

Trừ khi được quy định khác, giá trị bằng số bất kỳ, như nồng độ hoặc khoảng nồng độ được mô tả trong bản mô tả này, được hiểu là sẽ được biến đổi trong tất cả các trường hợp theo thuật ngữ "khoảng". Theo đó, giá trị bằng số thường bao gồm ± 10 % của giá trị được nêu. Ví dụ, nồng độ 1 mg/mL bao gồm 0,9 mg/mL đến 1,1 mg/mL. Tương tự, khoảng nồng độ bằng từ 1 % đến 10 % (khối lượng/thể tích) bao gồm 0,9 % (khối lượng/thể tích) đến 11 % (khối lượng/thể tích). Trong bản mô tả này, việc sử dụng khoảng số rõ ràng bao gồm tất cả các khoảng phụ có thể có, tất cả từng giá trị bằng số trong khoảng đó, bao gồm các số nguyên trong các khoảng này và các phân số có các giá trị này trừ khi ngữ cảnh nêu ý khác một cách rõ ràng.

Trừ khi được quy định khác, thuật ngữ "ít nhất" đứng trước một dãy các phần tử sẽ được hiểu là chỉ mọi phần từ trong dãy. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ nhận diện hoặc có khả năng biết rõ, chỉ cần bằng cách sử dụng thực

nghiệm thường quy, nhiều phương án tương đương với các phương án cụ thể của sáng chế được mô tả trong tài liệu này. Các phương án tương đương được dự kiến bao gồm trong sáng chế.

Trong bản mô tả này, các thuật ngữ "bao gồm", "gồm", "gồm có", "có", "chứa" hoặc "có chứa", hoặc bất kỳ biến thể nào khác của nó, sẽ được hiểu là ngụ ý bao gồm một số nguyên hoặc nhóm số nguyên đã nêu nhưng không loại trừ bất kỳ số nguyên hoặc nhóm số nguyên nào khác, và được dự kiến là không hạn chế hoặc có thể mở rộng. Ví dụ, chế phẩm, hỗn hợp, quy trình, phương pháp, mục hoặc thiết bị bao gồm danh sách các phần tử không nhất thiết chỉ giới hạn ở các phần tử này mà có thể bao gồm các phần tử khác không được liệt kê rõ ràng hoặc vốn thuộc chế phẩm, hỗn hợp, quy trình, phương pháp, mục hoặc thiết bị đó. Ngoài ra, trừ khi được quy định ngược lại một cách rõ ràng, "hoặc" đề cập đến yếu tố được bao gồm với hoặc và không đề cập yếu tố bị loại trừ với hoặc. Ví dụ, một điều kiện A hoặc B được thỏa mãn bởi điều bất kỳ trong những điều sau đây: A đúng (hoặc có) và B sai (hoặc không có), A sai (hoặc không có) và B đúng (hoặc có), và cả A và B đúng (hoặc có).

Như được sử dụng trong tài liệu này, thuật ngữ liên hợp "và/hoặc" giữa nhiều thành phần được nêu được hiểu là bao gồm cả các tùy chọn riêng lẻ và kết hợp. Ví dụ: khi hai phần tử được gắn liền với nhau bởi "và/hoặc", tùy chọn đầu tiên đề cập đến khả năng áp dụng của thành phần thứ nhất khi không có thành phần thứ hai. Phương án thứ hai đề cập đến khả năng áp dụng của thành phần thứ hai mà không có thành phần thứ nhất. Phương án thứ ba đề cập đến khả năng áp dụng sự kết hợp thành phần thứ nhất và thành phần thứ hai. Bất kỳ một trong những lựa chọn này đều được hiểu là nằm trong nghĩa và vì vậy đáp ứng yêu cầu của thuật ngữ "và/hoặc" như được sử dụng trong tài liệu này. Áp dụng đồng thời hơn một trong những lựa chọn này đều được hiểu là nằm trong nghĩa và do đó đáp ứng yêu cầu của thuật ngữ "và/hoặc".

Cần hiểu rằng trong bản mô tả này, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật cũng biết rằng, các thuật ngữ "khoảng", "xấp xỉ", "nói chung", "về cơ bản" và các thuật ngữ tương tự để chỉ kích thước hoặc đặc điểm của thành phần của sáng chế được ưu tiên, được sử dụng để chỉ báo rằng kích thước/đặc điểm không phải là giới hạn hoặc thông số nghiêm ngặt và bao gồm các biến thiên nhỏ mà về nguyên tắc là giống hoặc tương tự. Tối thiểu, các tham chiếu bao gồm thông số thể hiện giá trị bằng số sẽ bao gồm các biến thiên mà, khi sử dụng các nguyên lý toán học và nguyên lý công nghiệp được áp dụng trong

ngành (ví dụ, làm tròn, sai số đo lường hoặc sai số hệ thống khác, dung sai chế tạo, v.v.), sẽ không khác số có giá trị đáng kể thấp nhất.

Thuật ngữ "đồng nhất" hoặc phần trăm "đồng nhất", trong ngữ cảnh có hai hoặc nhiều axit nucleic hoặc chuỗi polypeptit (ví dụ, peptit GLP1, peptit cầu nối, protein albumin huyết thanh, protein GDF15 và polynucleotit mã hóa các peptit), chỉ hai hoặc nhiều chuỗi hoặc chuỗi con giống nhau hoặc có phần trăm xác định đơn phân axit amin hoặc nucleotit giống nhau, khi so sánh và bắt cặp sẽ tạo sự tương ứng tối đa, như được đo lường bằng cách sử dụng một trong các thuật toán so sánh trình tự sau hoặc bằng cách kiểm tra bằng mắt sử dụng các phương pháp được biết đến trong ngành theo quan điểm của sáng chế.

Để so sánh chuỗi, thông thường một chuỗi đóng vai trò là chuỗi tham chiếu còn chuỗi thử nghiệm được so sánh với nó. Khi sử dụng thuật toán so sánh chuỗi, các chuỗi tham chiếu và thử nghiệm được nhập vào máy tính, tọa độ chuỗi con được chỉ định, nếu cần, và các tham số chương tình thuật toán chuỗi được chỉ định. Thuật toán so sánh chuỗi sau đó tính toán phần trăm đồng nhất chuỗi cho chuỗi thử nghiệm so với chuỗi tham chiếu, dựa trên các tham số chương trình được chỉ định.

Có thể thực hiện bắt cặp tối đa các chuỗi để so sánh, ví dụ, bằng thuật toán tương đồng tại chỗ của Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. (Tiến bộ trong toán học ứng dụng) 2:482 (1981), bằng thuật toán bắt cặp tương đồng của Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. (Tạp chí sinh học phân tử) 48:443 (1970), bằng phương pháp tìm kiếm sự đồng dạng của Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci.(Viện Hàn lâm Khoa học Quốc gia) USA (Kỷ yếu Viện Hàn lâm Khoa học Quốc gia Hoa Kỳ) 85:2444 (1988), bằng sự triển khai các thuật toán này trên máy tính (GAP, BESTFIT, FASTA, và TFASTA trong Gói phần mềm di truyền Wisconsin, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), hoặc qua kiểm tra bằng mắt (xem tổng thể, Current Protocols in Molecular Biology (Các quy trình hiện nay trong sinh học phân tử), F.M. Ausubel và cộng sự, btv, Current Protocols ((Các quy trình hiện nay), dự án hợp tác giữa Greene Publishing Associates, Inc. và John Wiley & Sons, Inc., (1995 Supplement) (Ausubel)).

Các ví dụ về các thuật toán phù hợp để xác định phần trăm đồng nhất trình tự và đồng dạng trình tự là thuật toán BLAST and BLAST 2.0, được mô tả lần lượt trong Altschul và cộng sự (1990) J. Mol. Biol. (Tạp chí sinh học phân tử) 215: 403-410 và Altschul và cộng sự (1997) Nucleic Acids Res. (Nghiên cứu axit nucleic) 25: 3389-3402. Phần mềm để

thực hiện phân tích BLAST đã có trên thị trường thông qua Trung tâm quốc gia Thông tin công nghệ sinh học (National Center for Biotechnology Information). Thuật toán này trước tiên liên quan đến việc xác định các cặp trình tự cho điểm cao (HSP) bằng cách xác định các từ ngắn có độ dài W trong chuỗi truy vấn, các từ này khớp hoặc thỏa mãn một số điểm ngưỡng có giá trị dương T khi được bắt cặp với từ có cùng độ dài trong chuỗi cơ sở dữ liệu. T được gọi là ngưỡng điểm từ vùng lân cận (Altschul và cộng sự, supra). Các kết quả khớp từ lân cận ban đầu này đóng vai trò là hạt giống để bắt đầu tìm kiếm để tìm các HSP dài hơn có chứa chúng. Kết quả khớp từ sau đó được mở rộng theo cả hai hướng dọc theo mỗi chuỗi sao cho có thể tăng điểm bắt cặp tích lũy.

Ngoài việc tính toán nhận dạng trình tự phần trăm, thuật toán BLAST cũng thực hiện phân tích thống kê về sự giống nhau giữa hai trình tự (*xem, ví dụ*: Karlin & Altschul, Proc. Nat'l. Acad. Sci.(Viện Hàn lâm Khoa học Quốc gia) USA 90:5873-5787 (1993)). Một phép đo sự tương đồng được đề xuất bởi thuật toán BLAST là xác suất tổng nhỏ nhất (P (N)), cung cấp chỉ báo về xác suất mà sự trùng khớp giữa hai trình tự nucleotide hoặc axit amin sẽ tình cờ xảy ra. Ví dụ, axit nucleic được xem là tương tự như trình tự chuẩn nếu xác suất tổng nhỏ nhất khi so sánh giữa axit nucleic thử nghiệm với axit nucleic chuẩn là nhỏ hơn khoảng 0,1, tốt hơn là nhỏ hơn khoảng 0,01 và tốt nhất là nhỏ hơn khoảng 0,001.

Chỉ báo khác rằng hai chuỗi axit nucleic hoặc polypepetit về cơ bản là đồng nhất là polypeptit được mã hóa bởi axit nucleic thứ nhất phản ứng chéo miễn dịch với polypeptit được mã hóa bởi axit nucleic thứ hai, như được mô tả ở phần dưới. Theo đó, polypeptit về cơ bản là đồng nhất với polypeptit thứ hai, ví dụ, trong đó hai peptit chỉ khác nhau các thay thế bảo thủ. Chỉ báo khác rằng hai chuỗi axit nucleic hoặc polypepetit về cơ bản là đồng nhất là hai phân tử lai hóa với nhau trong các điều kiện khắc nghiệt.

Trong tài liệu này, "đối tượng" có nghĩa là động vật bất kỳ, tốt hơn là động vật có vú, tốt hơn là con người. Thuật ngữ "động vật có vú" được sử dụng trong bản mô tả này bao hàm động vật có vú bất kỳ. Các ví dụ về động vật có vú bao gồm, nhưng không giới hạn ở bò, ngựa, cừu, lợn, mèo, chó, chuột nhắt, chuột, thỏ, chuột lang, khỉ, con người, v.v., cụ thể hơn là con người.

Thuật ngữ "cho sử dụng" theo các phương pháp trong sáng chế nghĩa là phương pháp phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện một hội chứng, rối loạn hoặc bệnh như được mô

tả trong tài liệu này bằng cách sử dụng liên hợp hoặc hợp chất của sáng chế hoặc dạng, chế phẩm hoặc dược phẩm chứa hợp chất này. Những phương pháp trên bao gồm bước cho sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu liên hợp, hợp chất, dạng, chế phẩm hoặc dược phẩm nói trên vào các thời điểm khác nhau trong quá trình trị liệu hoặc cung cấp đồng thời ở dạng kết hợp. Các phương pháp trong sáng chế phải được hiểu là bao hàm tất cả các phác đồ điều trị được biết đến.

Thuật ngữ "lượng điều trị hữu hiệu" có nghĩa là lượng hoạt chất hoặc dược chất tạo ra các phản ứng sinh học hoặc dược học trong hệ mô, động vật hoặc con người đang được nghiên cứu bởi nhà nghiên cứu, bác sĩ thú y, bác sỹ tư vấn hoặc bác sỹ lâm sàng, có tác dụng phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện hội chứng, rối loạn hoặc bệnh hoặc các triệu chứng của hội chứng, rối loạn hoặc bệnh đang được điều trị.

Trong tài liệu này, thuật ngữ "chế phẩm" dùng để chỉ một sản phẩm bao gồm các thành phần xác định với lượng xác định, cũng như sản phẩm bất kỳ là kết quả, trực tiếp hay gián tiếp, của sự kết hợp các thành phần xác định với lượng xác định.

Thuật ngữ "được phân lập" có thể chỉ axit nucleic hoặc polypeptit về cơ bản không chứa vật liệu tế bào, vật liệu vi khuẩn, vật liệu vi rút hoặc môi trường nuôi cấy (khi được sản xuất bằng kỹ thuật DNA tái tổ hợp) gốc của chúng hoặc tiền chất hóa học hoặc các hóa chất khác (khi được tổng hợp hóa học). Ngoài ra, polypeptit được phân lập đề cập đến một polypeptit có thể được dùng cho đối tượng dưới dạng polypeptit được phân lập; nói cách khác, polypeptit này có thể không đơn giản được coi là "được phân lập" nếu nó bám dính vào cột hoặc được nhúng trong gel. Ngoài ra, "đoạn axit nucleic được phân lập" hoặc "peptit được phân lập" là axit nucleic hoặc đoạn protein không xuất hiện một cách tự nhiên dưới dạng đoạn và/hoặc không thường ở trạng thái chức năng.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "polynucleotit", đồng nghĩa với "phân tử axit nucleic", "nucleotit" hay "axit nucleic", chỉ polyribonucleotit hay polyđeoxyribonucleotit bất kỳ, có thể là ARN hay ADN chưa điều hòa hoặc ARN hay ADN đã điều hòa. "Polynucleotit" bao gồm, không giới hạn, ADN sợi đơn và sợi kép, ADN là hỗn hợp của các vùng sợi đơn và sợi kép, các ARN sợi đơn và sợi kép, và ARN là hỗn hợp của các vùng sợi đơn và sợi kép, các phân tử lai chứa ADN và ARN có thể là sợi đơn hoặc, điển hình hơn, là sợi kép hoặc là hỗn hợp của các vùng sợi đơn và sợi kép. Ngoài ra, "polynucleotit" chỉ các vùng có cấu trúc ba mạch bao gồm ARN hoặc ADN hoặc cả ARN

và ADN. Thuật ngữ polynucleotit còn bao gồm các ADN hoặc ARN chứa một hoặc nhiều gốc (gốc) đã điều hòa và ADN hoặc ARN với các khung được điều hòa cho mục đích ổn định hoặc cho các lý do khác. Các gốc "điều hòa" bao gồm, ví dụ, các gốc đã bổ sung nhóm bảo vệ trityl và các gốc không thông thường khác như inosin. Có thể thực hiện nhiều kiểu điều hòa khác nhau đối với ADN và ARN; do đó, "polynucleotit" bao gồm các dạng được điều hòa hóa học, điều hòa bằng enzym hoặc bằng cách chuyển hóa của polynucleotit như thường thấy trong tự nhiên, cũng như trong các dạng hóa học đặc trưng của ADN và ARN của các vi rút và tế bào. "Polynucleotit" đồng thời bao gồm cả những mạch axit nucleic tương đối ngắn, thường được gọi là oligonucleotit.

Thuật ngữ "biểu hiện" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ sự sinh tổng hợp một sản phẩm gen. Thuật ngữ này bao hàm sự phiên mã một gen tạo thành ARN. Thuật ngữ này cũng bao hàm sự dịch mã ARN thành một hoặc nhiều polypeptit, và còn bao hàm tất cả các điều hòa diễn ra tự nhiên sau phiên mã và sau dịch mã. Polypeptit được biểu hiện có thể nằm trong tế bào chất của tế bào chủ, môi trường ngoại bào như môi trường sinh trưởng của môi trường nuôi cấy tế bào hoặc được neo vào màng tế bào.

Như được sử dụng trong tài liệu này, thuật ngữ "peptit", "polypeptit" hoặc "protein" có thể chỉ phân tử bao gồm axit amin và có thể được chuyên gia trong ngành công nhận là protein. Quy ước mã một chữ cái hoặc mã ba chữ cái cho đơn phân axit amin được sử dụng trong tài liệu này. Các thuật ngữ "peptit", "polypeptit" và "protein" có thể được sử dụng thay thế cho nhau ở đây để chỉ các polyme của axit amin có độ dài bất kỳ, bao gồm các polyme chứa peptit/polypeptit được liên kết (ví dụ, được dung hợp) (ví dụ, protein dung hợp). Polyme có thể là mạch thẳng hoặc phân nhánh, nó có thể bao gồm các axit amin đã biến đổi và có thể bị gián đoạn bởi các axit không phải là axit amin. Các thuật ngữ này cũng bao gồm polyme axit amin đã được biến đổi tự nhiên hoặc do can thiệp; ví dụ, sự hình thành liên kết đisulfua, glycosyl hóa, liên kết với chất béo (lipidation), axetyl hóa, phosphoryl hóa hoặc bất kỳ việc xử lý hoặc sửa đổi nào khác, chẳng hạn như tiếp hợp với thành phần gắn nhãn. Định nghĩa cũng bao gồm, ví dụ, polypeptit chứa một hoặc nhiều chất tương tự axit amin (bao gồm, ví dụ như axit amin không tự nhiên, v.v.), cũng như các biến đổi khác đã được biết đến trong ngành.

Các chuỗi peptit được mô tả trong bản mô tả này được viết theo thông lệ trong đó vùng đầu N của peptit ở phía trái và vùng đầu C ở phía phải. Mặc dù đã biết dạng đồng

phân của axit amin, dạng L của axit amin được làm đại diện trừ khi được quy định khác một cách rõ ràng.

Protein dung hợp yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15)-peptit giống như glucagon 1 (GLP1)

Mặc dù sự phát tín hiệu của GDF15 lẫn GLP1 đều có thể làm giảm lượng thu nạp thức ăn, nhưng những tác dụng này dường như độc lập với nhau. Ví dụ, tác dụng của GDF15 được duy trì khi không có GLP1R ở chuột và ngược lại, điều trị GLP1 vẫn dẫn đến tác dụng của lượng thu nạp thức ăn khi không có GFRAL (Hsu và cộng sự, Nature 550:255-9 (2017), Mullican và cộng sự, Nat Med 23:1150-7 (2017)). Do đó, giả thuyết rằng việc nhắm mục tiêu đồng thời cả hai cơ chế có thể làm giảm lượng thu nạp thức ăn và giảm cân nhiều hơn so với một trong hai cơ chế. Sự kết hợp dược lý bổ sung nhưng độc lập của chất chủ vận GDF15 và GLP1 thông qua dung hợp với albumin huyết thanh người sẽ mang lại lợi ích về vấn đề giảm cân, độ nhạy insulin, tiết insulin và hậu quả về tim mạch với một phân tử tái tổ hợp đầy đủ phù hợp để dùng mỗi tuần một lần. Thách thức lớn đối với phương pháp này là cung cấp từng chất chủ vận bên trong phân tử theo cách cân bằng, gắn kết thụ thể tương ứng ở mức mong muốn, đủ để đạt được tất cả tác dụng mong muốn nhưng tránh được tác dụng phụ theo mục tiêu. Sự cân bằng này có thể được tinh chỉnh bằng cách điều chỉnh độ hiệu nghiệm và/hoặc đặc tính dược động học của một trong hai nhánh chủ vận của phân tử.

Theo một phương án chung, sáng chế đề cập đến protein dung hợp yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15)-peptit giống như glucagon 1 (GLP1). Protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1, peptit cầu nối thứ nhất (ví dụ, cầu nối đầu amin (N)), protein albumin huyết thanh người (HSA), peptit cầu nối thứ hai (ví dụ, cầu nối đầu carboxy (C)) và GDF15 hoặc protein biến thể GDF15.

Peptit-1 (GLP1) giống như glucagon hoặc peptit biến thể GLP1

Peptit giống như glucagon 1 (GLP1) là chất kích thích tiết insulin được tổng hợp trong ruột và được giải phóng để đáp ứng lượng nạp vào thức ăn. Nó được tiết ra chủ yếu ở hai dạng, GLP1-(7-37) và GLP1-(7-36)NH_2, cả hai dạng này đều liên kết với thụ thể GLP1 cụ thể (GLP1R) được tìm thấy trong nhiều mô, bao gồm tế bào beta tụy, nơi nó tăng tiết insulin do glucoza kích thích và ở thân não, nơi nó kiểm soát cảm giác no và khẩu phần ăn.

Nhiều chất tương tự và chất dẫn xuất GLP1 đã được biết đến và có thể được gọi trong tài liệu này là "biến thể GLP1". Các peptit biến thể GLP1 này có thể bao gồm exenđin, là các peptit được tìm thấy trong nọc độc của thằn lằn khổng lồ Gila. Các exenđin này có tính tương đồng trình tự với GLP1 tự nhiên và có thể liên kết thụ thể GLP1 và bắt đầu phản ứng hệ truyền tín hiệu nội bào.

GLP1 và peptit biến thể GLP1 đã được chứng minh là hoạt động theo nhiều cách khác nhau, có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, kích thích giải phóng insulin, giảm tiết glucagon, ức chế quá trình làm rỗng dạ dày và tăng tiêu thụ glucoza.

GLP1R thuộc họ lớp B của thụ thể 7-transmembrane-spanning (thụ thể 7 vực xuyên màng), heterotrimeric G-protein-coupled (thụ thể bắt cặp với G protein) và được biểu hiện trong phạm vi rộng các mô bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tế bào α-, β-, và δ của tiểu đảo tuyến tụy, tim, thận, dạ dày, ruột, tế bào thần kinh hạch nốt của dây thần kinh phế vị và một số vùng của hệ thần kinh trung ương (CNS) bao gồm vùng não dưới đồi và thân não. GLP1R có thể ghép với $G\alpha_s$, $G\alpha_q$, $G\alpha_i$ và $G\alpha_o$ (Montrose-Rafizadeh và cộng sự, Endocrinology (Nội tiết học) 140:1132-40 (1999); Hallbrink và cộng sự, Biochim Biophys Acta 1546:79-86 (2001)) dẫn đến tăng canxi nội bào, ađenylat xyclaza, và phospholipase C, và kích hoạt đường truyền tín hiệu PKA, PKC, PI-3K, Epac2, và MAPK (Drucker và cộng sự, PNAS 84:3434-8 (1987); Wheeler và cộng sự, Endrocrinology (Nội tiết học) 133:57-62 (1993); và Holz và cộng sự, JBC 270:17749-57 (1995)).

Sáng chế đề xuất protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm thành phần thứ nhất, trong đó thành phần thứ nhất này là GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1. Như được sử dụng trong tài liệu này, thuật ngữ "peptit GLP1", "peptit biến thể GLP1", "biến thể peptit GLP1" và "GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1" được sử dụng thay thế lẫn nhau. GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 có thể bao gồm một trong các trình tự được cung cấp trong Bảng 1. GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 có thể bao gồm ít nhất 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % sự đồng nhất với một trong các trình tự được cung cấp trong Bảng 1. GLP1 hoặc trình tự peptit biến thể GLP1 có thể được chọn dựa trên ít nhất một trong các tiêu chí sau: (i) năng suất biểu hiện và độ tinh khiết, (ii) độ ổn định *trong ống nghiệm*, (iii) độ hiệu nghiệm *trong ống nghiệm*, (iv) sự duy trì hiệu nghiệm *trong ống nghiệm* kết hợp với protein biến thể GDF15 hoặc GDF15, (v) thiếu xylosyl hóa serin hoặc

khả năng xylosyl hóa serin, và (vi) đặc tính của protein dung hợp GLP1-GDF15 (ví dụ: độ ổn định *trong cơ thể sống*, độ hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* (tức peptit biến thể GLP1 hoặc GLP1 và protein biến thể GDF15 hoặc GDF15 có thể có hoạt tính đồng vận trên GLP1R và thụ thể GDF15R (GFRAL) tương ứng hay không)).

GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 tạo nên thành phần peptit dung hợp GLP1 thứ nhất nhằm mục đích bao gồm peptit có đủ tính tương đồng và chức năng với GLP1 tự nhiên. Peptit biến thể GLP1 hoặc GLP1 được thiết kế để có khả năng liên kết với thụ thể GLP1 trong mô bao gồm tuyến tụy và thân não, dẫn đến cùng một đường phát tín hiệu và biểu hiện cùng một hoạt tính sinh lý học hoặc tương tự, như khi GLP1 tự nhiên liên kết thụ thể GLP1 trong các mô này.

Bảng 1: Peptit giống như glucagon 1 và biến thể của nó

GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1	Chuỗi peptit	SỐ ID TRÌNH TỰ:
(A8S, A30E) GLP1(7-36)	HSEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIEWLVKGR	1
(A8G, G22E, R36G) GLP1 (7-36)	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGG	2
Exenđin 4 (1-39)	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPS	3
Exendin 4 (1-28)	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKN	4

Peptit cầu nối thứ nhất: cầu nối đầu amino (cầu nối đầu N)

Sáng chế đề xuất protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm thành phần thứ hai, trong đó thành phần thứ hai là peptit cầu nối thứ nhất (tức peptit cầu nối đầu amino). Peptit cầu nối thứ nhất có thể bao gồm một trong những chuỗi được đề xuất ở bảng 2. Peptit cầu nối thứ nhất có thể bao gồm ít nhất 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % sự đồng nhất với một trong các trình tự được cung cấp trong Bảng 2.

Peptit cầu nối thứ nhất, ví dụ, có thể bao gồm khoảng 5 đến khoảng 60 đơn phân axit amin, khoảng 10 đến khoảng 50 đơn phân axit amin, khoảng 10 đến khoảng 60 đơn phân axit amin, khoảng 5 đến khoảng 50 đơn phân axit amin, khoảng 15 đến khoảng 40 đơn phân axit amin, khoảng 12 đến khoảng 30 đơn phân axit amin, khoảng 12 đến khoảng 42 đơn phân axit amin, khoảng 20 đến khoảng 25 đơn phân axit amin,

khoảng 8 đến khoảng 48 đơn phân axit amin, khoảng 10 đến khoảng 46 đơn phân axit amin, khoảng 12 đến khoảng 44 đơn phân axit amin, khoảng 14 đến khoảng 42 đơn phân axit amin, khoảng 16 đến khoảng 40 đơn phân axit amin, khoảng 18 đến khoảng 38 đơn phân axit amin, khoảng 20 đến khoảng 36 đơn phân axit amin, khoảng 20 đến khoảng 42 đơn phân axit amin, khoảng 22 đến khoảng 34 đơn phân axit amin, khoảng 24 đến khoảng 32 đơn phân axit amin, khoảng 26 đến khoảng 30 đơn phân axit amin hoặc bất kỳ giá trị nào ở giữa. Peptit cầu nối thứ nhất có thể bao gồm 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 hoặc 60 đơn phân axit amin.

Theo các phương án nhất định, peptit cầu nối thứ nhất có thể chứa đoạn lặp alanin-prolin (tức đoạn lặp AP), trong đó đipeptit AP có thể được gọi là đơn vị AP. Đoạn lặp AP này có thể bao gồm 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 hoặc 27 đơn vị AP. Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ nhất có thể, ví dụ như bao gồm 2 đến 25 đơn vị AP, 5 đến 25 đơn vị, 4 đến 23 đơn vị AP, 6 đến 21 đơn vị AP, 8 đến 19 đơn vị AP, 10 đến 17 đơn vị AP, 12 đến 15 đơn vị AP, 5 đến 10 đơn vị AP, 5 đến 15 đơn vị AP, 10 đến 25 đơn vị AP, 15 đến 25 đơn vị AP, 20 đến 25 đơn vị AP hoặc bất kỳ giá trị nào ở giữa. Theo một số phương án, đoạn lặp AP có thể ở trong đipeptit alanin-serin (tức đơn vị AS) và đipeptit glyxin-serin (tức đơn vị GS). Đơn vị AS có thể, ví dụ, nằm ở đầu cuối amin của peptit cầu nối thứ nhất. Đơn vị GS có thể, ví dụ, nằm ở đầu carboxyl của peptit cầu nối thứ nhất.

Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ nhất có thể chứa đoạn lặp glyxin-glyxin-glyxin-glyxin-serin (tức đoạn lặp G_4S), trong đó pentapeptit G_4S có thể được gọi là đơn vị G_4S. Đoạn lặp G_4S có thể bao gồm 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 hoặc 15 đơn vị G_4S. Theo một số phương án, ví dụ, peptit cầu nối thứ nhất có thể bao gồm 2 đến 15 đơn vị G_4S, 4 đến 13 đơn vị G_4S, 6 đến 11 đơn vị G_4S, 8 đến 9 đơn vị G_4S, 2 đến 8 đơn vị G_4S, 2 đến 6 đơn vị G_4S, 6 đến 8 đơn vị G_4S, 7 đến 8 đơn vị G_4S, 7 đến 9 đơn vị G_4S, 7 đến 10 đơn vị G_4S hoặc bất kỳ giá trị nào ở giữa. Theo một số phương án, đơn vị AS hoặc GS có thể, ví dụ như ở đầu cuối amin của peptit cầu nối thứ nhất.

Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ nhất có thể chứa đoạn lặp glyxin-glyxin-glyxin-glyxin-alanin (tức đoạn lặp G_4A), trong đó pentapeptit G_4A có thể được gọi là đơn

vị G_4A. Đoạn lặp G_4A có thể bao gồm 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 hoặc 15 đơn vị G_4A. Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ nhất có thể, ví dụ, bao gồm 2 đến 15 đơn vị G_4A, 4 đến 13 đơn vị G_4A, 6 đến 11 đơn vị G_4A, 8 đến 9 đơn vị G_4A, 2 đến 8 đơn vị G_4A, 2 đến 4 đơn vị G_4A, 2 đến 6 đơn vị G_4A, 4 đến 6 đơn vị G_4A, 4 đến 8 đơn vị G_4A, 6 đến 8 đơn vị G_4A, 6 đến 9 đơn vị G_4A, 6 đến 10 đơn vị G_4A hoặc bất kỳ giá trị nào ở giữa. Theo một số phương án, đipeptit glyxin-alanin (tức đơn vị GA), ví dụ, có thể ở đầu cuối amin của peptit cầu nối thứ nhất.

Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ nhất có thể là peptit poly-glyxin. Peptit poly-glyxin có thể bao gồm khoảng 6 đến khoảng 50 đơn phân glyxin, khoảng 10 đến khoảng 45 đơn phân glyxin, khoảng 15 đến khoảng 40 đơn phân glyxin, khoảng 20 đến khoảng 35 đơn phân glyxin, khoảng 25 đến khoảng 30 đơn phân glyxin, khoảng 20 đến khoảng 25 đơn phân glyxin hoặc bất kỳ số nào ở giữa. Peptit cầu nối đầu tiên poly-glyxin có thể bao gồm 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 hoặc 50 đơn phân glyxin.

Chuỗi peptit cầu nối thứ nhất có thể được chọn dựa trên ít nhất một trong các tiêu chí sau: (i) năng suất biểu hiện và độ tinh khiết, (ii) độ hiệu nghiệm *trong ống nghiệm*, (iii) độ ổn định *trong ống nghiệm*, (iv) thiếu xylosyl hóa serin hoặc khả năng xylosyl hóa serin, và (v) đặc tính của protein dung hợp GLP1-GDF15 (ví dụ, độ ổn định *trong cơ thể sống*, độ hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* (tức GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 và GDF15 hoặc protein biến thể GDF15 có thể có hoạt tính đồng vận trên GLP1R và GDF15R (GFRAL) tương ứng hay không)).

Bảng 2: Peptit cầu nối thứ nhất (peptit cầu nối đầu N)

Peptit cầu nối thứ nhất	Chuỗi peptit	SỐ ID TRÌNH TỰ:
1-1	APAPAPAPAP	5
1-2	APAPAPAPAPAPAPAPAPAP	6
1-3	APAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAP	7
1-4	APAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAP	8
1-5	APAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAP	9
1-6	ASAPAPAPAPAPAPAPAPAPGS	10
1-7	ASAPAPAPAPAPGS	11
1-8	ASGGGGSGGGGS	12

1-9	ASGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	13
1-10	GAGGGGAGGGGA	14
1-11	GAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGA	15
1-12	GGGGAGGGGAGGGGA	16
1-13	GGGGAGGGGAGGGGAGGGGA	17
1-14	GGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGA	18
1-15	GGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGA	19
1-16	GGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGA	20
1-17	GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG	21
1-18	GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG	22
1-19	GGGGSGGGGSGGGGS	23
1-20	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	24
1-21	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	25

Protein albumin huyết thanh

Sáng chế đề xuất protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm thành phần thứ ba, trong đó thành phần thứ ba này là protein albumin huyết thanh (ví dụ, protein albumin huyết thanh người (HSA) hoặc protein albumin huyết thanh khỉ đột (GSA)). Protein albumin huyết thanh người tự nhiên chứa 35 đơn phân xystein (Cys, C) tạo 17 liên kết đisulfua, với đơn phân Cys-34 là xystein tự do duy nhất trong phân tử. Cys-34 tự do này đã cho thấy là nó hoạt động như chất chống muội có gốc tự do, bằng cách bẫy nhiều dạng oxy phản ứng (ROS) và dạng nitơ phản ứng (RNS) ((Taverna và cộng sự, Ann. Săn sóc tích cực (Intensive Care) 3:4 (2013)). Cys tự do này được tạo đột biến thành serin (Ser) để giảm nguy cơ không đồng nhất do quá trình oxy hóa.

Protein albumin huyết thanh có thể bao gồm một trong các trình tự được cung cấp trong Bảng 3. Protein albumin huyết thanh có thể bao gồm ít nhất 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % sự đồng nhất với một trong các trình tự được cung cấp trong Bảng 3. Trình tự protein albumin huyết thanh có thể được chọn dựa trên ít nhất một trong các tiêu chí sau: (i) độ ổn định *trong ống nghiệm*, (ii) độ hiệu nghiệm *trong ống nghiệm* và (iii) các đặc tính của protein dung hợp GLP1-GDF15 (ví dụ, độ ổn định *trong cơ thể sống* và độ hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* (tức GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 và GDF15 hoặc protein biến thể GDF15 có thể có hoạt tính đồng vận trên GLP1R và GDF15R tương ứng hay không)).

Bảng 3: Protein albumin huyết thanh

Protein kéo dài thời gian bán thải	Trình tự protein	SỐ ID TRÌNH TỰ:
Dung hợp HSA (C34S)	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFA KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE CFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKC ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAK TYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYK FQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN AETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA FVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL	26
GSA (C34S)	DAHKSEVAHRFKDLGEETFKALVLVAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFA KTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE CFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAARYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKC ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDL LECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCLAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAK TYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYK FQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN AETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALAELVKHKPKATKEQLKTVMDDFAAF VEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL	27

Peptit cầu nối thứ hai: cầu nối đầu carboxy (cầu nối đầu C)

Sáng chế đề xuất protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm thành phần thứ tư, trong đó thành phần thứ tư này là peptit cầu nối thứ hai (tức peptit cầu nối đầu carboxy). Peptit cầu nối thứ hai có thể bao gồm một trong những chuỗi được đề xuất ở bảng 4. Peptit cầu nối thứ hai có thể bao gồm ít nhất 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % sự đồng nhất với một trong các trình tự được cung cấp trong Bảng 4.

Peptit cầu nối thứ hai có thể, ví dụ, bao gồm khoảng 5 đến khoảng 60 đơn phân axit amin, khoảng 10 đến khoảng 50 đơn phân axit amin, khoảng 10 đến khoảng 60 đơn phân axit amin, khoảng 5 đến khoảng 50 đơn phân axit amin, khoảng 15 đến khoảng 40 đơn phân axit amin, khoảng 12 đến khoảng 30 đơn phân axit amin, khoảng 12 đến khoảng 42 đơn phân axit amin, khoảng 20 đến khoảng 25 đơn phân axit amin,

khoảng 8 đến khoảng 48 đơn phân axit amin, khoảng 10 đến khoảng 46 đơn phân axit amin, khoảng 12 đến khoảng 44 đơn phân axit amin, khoảng 14 đến khoảng 42 đơn phân axit amin, khoảng 16 đến khoảng 40 đơn phân axit amin, khoảng 18 đến khoảng 38 đơn phân axit amin, khoảng 20 đến khoảng 36 đơn phân axit amin, khoảng 20 đến khoảng 42 đơn phân axit amin, khoảng 22 đến khoảng 34 đơn phân axit amin, khoảng 24 đến khoảng 32 đơn phân axit amin, khoảng 26 đến khoảng 30 đơn phân axit amin hoặc bất kỳ giá trị nào ở giữa. Peptit cầu nối thứ hai có thể bao gồm 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 hoặc 60 đơn phân axit amin.

Theo các phương án nhất định, peptit cầu nối thứ hai có thể chứa đoạn lặp alanin-prolin (tức đoạn lặp AP), trong đó đipeptit AP có thể được gọi là đơn vị AP. Đoạn lặp AP này có thể bao gồm 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 hoặc 27 đơn vị AP. Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ hai có thể, ví dụ, bao gồm 2 đến 25 đơn vị AP, 5 đến 25 đơn vị, 4 đến 23 đơn vị AP, 6 đến 21 đơn vị AP, 8 đến 19 đơn vị AP, 10 đến 17 đơn vị AP, 12 đến 15 đơn vị AP, 5 đến 10 đơn vị, 5 đến 15 đơn vị, 10 đến 25 đơn vị, 15 đến 25 đơn vị, 20 đến 25 đơn vị hoặc bất kỳ giá trị nào ở giữa. Theo một số phương án, đoạn lặp AP có thể ở trong đipeptit alanin-serin (tức đơn vị AS) và đipeptit glyxin-serin (tức đơn vị GS). Đơn vị AS có thể, ví dụ, nằm ở đầu cuối amin của peptit cầu nối thứ hai. Đơn vị GS có thể, ví dụ, nằm ở đầu carboxyl của peptit cầu nối thứ hai.

Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ hai có thể chứa đoạn lặp glyxin-glyxin-glyxin-glyxin-serin (tức đoạn lặp G_4S), trong đó pentapeptit G_4S có thể được gọi là đơn vị G_4S. Đoạn lặp G_4S có thể bao gồm 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 hoặc 15 đơn vị G_4S. Theo một số phương án, ví dụ, peptit cầu nối thứ hai có thể, ví dụ, bao gồm 2 đến 15 đơn vị G_4S, 4 đến 13 đơn vị G_4S, 6 đến 11 đơn vị G_4S, 8 đến 9 đơn vị G_4S, 2 đến 8 đơn vị G_4S, 2 đến 6 đơn vị G_4S, 6 đến 8 đơn vị G_4S, 7 đến 8 đơn vị G_4S, 7 đến 9 đơn vị G_4S, 7 đến 10 đơn vị G_4S hoặc bất kỳ giá trị nào ở giữa. Theo một số phương án, đơn vị AS hoặc GS có thể, ví dụ, ở đầu cuối amin của peptit cầu nối thứ hai.

Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ hai có thể chứa đoạn lặp glyxin-glyxin-glyxin-glyxin-alanin (tức đoạn lặp G_4A), trong đó pentapeptit G_4A có thể được

gọi là đơn vị G_4A. Đoạn lặp G_4A có thể bao gồm 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 hoặc 15 đơn vị G_4A. Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ hai có thể, ví dụ, bao gồm 2 đến 15 đơn vị G_4A, 4 đến 13 đơn vị G_4A, 6 đến 11 đơn vị G_4A, 8 đến 9 đơn vị G_4A, 2 đến 8 đơn vị G_4A, 2 đến 4 đơn vị G_4A, 2 đến 6 đơn vị G_4A, 4 đến 6 đơn vị G_4A, 4 đến 8 đơn vị G_4A, 6 đến 8 đơn vị G_4A, 6 đến 9 đơn vị G_4A, 6 đến 10 đơn vị G_4A hoặc bất kỳ giá trị nào ở giữa. Theo một số phương án, đơn vị đipeptit glyxin-alanin (tức đơn vị GA) có thể, ví dụ, ở đầu cuối amin của peptit cầu nối thứ hai.

Theo một số phương án, peptit cầu nối thứ hai có thể là peptit poly-glyxin. Peptit poly-glyxin có thể bao gồm khoảng 6 đến khoảng 50 đơn phân glyxin, khoảng 10 đến khoảng 45 đơn phân glyxin, khoảng 15 đến khoảng 40 đơn phân glyxin, khoảng 20 đến khoảng 35 đơn phân glyxin, khoảng 25 đến khoảng 30 đơn phân glyxin, khoảng 20 đến khoảng 25 đơn phân glyxin hoặc bất kỳ số nào ở giữa. Peptit cầu nối thứ hai poly-glyxin có thể bao gồm 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 hoặc 50 đơn phân glyxin.

Chuỗi peptit cầu nối thứ hai có thể được chọn dựa trên ít nhất một trong các tiêu chí sau: (i) năng suất biểu hiện và độ tinh khiết, (ii) độ hiệu nghiệm *trong ống nghiệm*, (iii) độ ổn định *trong ống nghiệm*, (iv) thiếu xylosyl hóa serin hoặc khả năng xylosyl hóa serin, và (v) đặc tính của protein dung hợp GLP1-GDF15 (ví dụ, độ ổn định *trong cơ thể sống*, độ hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* (tức GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 và GDF15 hoặc protein biến thể GDF15 có thể có hoạt tính đồng vận tương ứng trên GLP1R và GDF15R (GFRAL) hay không).

Bảng 4: Peptit cầu nối thứ hai (peptit cầu nối đầu C)

Peptit cầu nối thứ hai	Chuỗi peptit	SỐ ID TRÌNH TỰ:
2-1	APAPAPAPAPAPAPAPAPAP	28
2-2	GAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGA	29
2-3	GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	30

GDF15 hoặc protein biến thể GDF15

Yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15) là protein thuộc siêu họ beta của yếu tố tăng trưởng biến đổi (TGF-β). GDF15 là protein được tiết ra lưu thông dưới dạng đime 25 kDa. GDF15 còn được gọi là yếu tố dẫn xuất từ tuyến tiền liệt (PDF), cytokin ức chế đại thực bào 1 (MIC-1), NSAID (thuốc chống viêm không steroit)-gen hoạt hóa (NAG-1) và TGF-beta nhau thai (PTGFβ).

Chức năng GDF15 vẫn chưa được giải thích đầy đủ, nhưng có liên quan đến nhiều quá trình sinh học bao gồm, nhưng không giới hạn ở, cân bằng nội môi năng lượng, điều hòa cân nặng và tình trạng suy mòn do ung thư và bệnh mãn tính. Tiềm năng của GDF15 được cho dùng theo dược lý để giảm năng lượng nạp vào và do đó giúp giảm cân nặng đã được chứng minh ở chuột nhắt, chuột cống và khỉ. (Johnen và cộng sự, Nat Med (Tạp chí Nature Medicine) 13:1333-40 (2007), Hsu và cộng sự, Tạp chí Nature 550:255-9 (2017), Mullican và cộng sự, Nat Med (Tạp chí Nature Medicine) 23:1150-7 (2017), Tsai và cộng sự, Int J Obesity (Tạp chí quốc tế về bệnh béo phì) 42:561–71 (2018)). Giảm cân qua trung gian điều trị GDF15 giúp cải thiện chuyển hóa bao gồm tăng cường cân bằng nội môi glucoza, giảm triglyxerit và cholesterol trong huyết tương (Xiong và cộng sự, Sci Trans Med (Khoa học chuyển đổi Y học) 9:412 (2017)).

GDF15 liên kết với thụ thể họ GDNF giống như alpha (GDNF Family Receptor Alpha Like, GFRAL) - thụ thể xuyên màng nằm riêng ở các tế bào thần kinh trong thân não (Mullican và cộng sự, Hsu và cộng sự, Yang và cộng sự, Emmerson và cộng sự). Sau khi liên kết với GDF15, GFRAL tạo phức với RET, kinaza tyrosin kích thích hệ phosphoryl hóa nội bào xuôi dòng bao gồm sự điều hòa AKT, ERK và PLCγ sau dịch mã. Trong khi các thành phần phân tử và tế bào bổ sung của hệ thống này vẫn cần được giải thích, tác dụng cuối cùng của việc phát tín hiệu GDF15/GFRAL là giảm lượng thu nạp thức ăn và giảm cân (Mullican và Rangwala, 2018).

Sáng chế đề xuất protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm thành phần thứ năm, trong đó thành phần thứ năm này là GDF15 hoặc protein biến thể GDF15. Protein GDF15 có thể bao gồm trình tự được cung cấp trong Bảng 5 và protein biến thể GDF15 có thể bao gồm biến thể của trình tự được cung cấp trong Bảng 5. GDF15 hoặc protein biến thể GDF15 có thể bao gồm ít nhất 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % sự đồng nhất với một trong các trình tự được cung cấp trong Bảng 5. GDF15

và/hoặc trình tự protein biến thể GDF15 có thể được chọn dựa trên ít nhất một trong các tiêu chí sau: (i) năng suất biểu hiện và độ tinh khiết, (ii) độ ổn định *trong ống nghiệm*, (iii) độ hiệu nghiệm *trong ống nghiệm*, (iv) sự duy trì độ hiệu nghiệm *trong ống nghiệm* kết hợp với protein biến thể GLP1 hoặc GLP1, (v) thiếu xylosyl hóa serin hoặc khả năng xylosyl hóa serin, và (vi) đặc tính của protein dung hợp GLP1-GDF15 (ví dụ, độ ổn định *trong cơ thể sống*, độ hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* (tức GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 và GDF15 hoặc protein biến thể GDF15 có thể có hoạt tính đồng vận trên thụ thể GLP1R và/hoặc GDF15R (GFRAL) tương ứng hay không).

GDF15 hoặc protein biến thể GDF15 tạo nên thành phần thứ năm của protein dung hợp GLP1-GDF15 nhằm mục đích bao gồm các protein có đủ tính tương đồng và chức năng để kích hoạt GDF15R (GFRAL) tự nhiên. GDF15 hoặc protein biến thể GDF15 được thiết kế để có khả năng liên kết với GFRAL trong thân não dẫn đến cùng một đường phát tín hiệu và biểu hiện cùng một tác động lên lượng thu nạp thức ăn như khi GDF15 tự nhiên liên kết GFRAL trong các tế bào thần kinh này.

Bảng 5: GDF15 hoặc protein biến thể GDF15

GDF15 hoặc protein biến thể GDF15	Trình tự protein	SỐ ID TRÌNH TỰ:
Biến thể GDF15 1	DHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCI GACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMV LIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	31
GDF15 WT trưởng thành	ARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQV TMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASY NPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	32

Protein dung hợp GLP1-GDF15

Sáng chế đề xuất protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm thành phần thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư và thứ năm như được mô tả trước đây. Thành phần thứ nhất là GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1, thành phần thứ hai là peptit cầu nối thứ nhất, thành phần thứ ba là protein albumin huyết thanh, thành phần thứ tư là peptit cầu nối thứ hai và thành phần thứ năm là GDF15 hoặc protein biến thể GDF15. Protein dung hợp GLP1-GDF15 có thể bao gồm một trong các trình tự được cung cấp trong Bảng 6. Protein dung hợp GLP1-GDF15 có thể bao gồm ít nhất 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % sự đồng nhất với một trong các

trình tự được cung cấp trong Bảng 6. Protein dung hợp GLP1-GDF15 có thể được chọn dựa trên ít nhất một trong các tiêu chí sau: (i) năng suất biểu hiện và độ tinh khiết, (ii) độ hiệu nghiệm *trong ống nghiệm*, (iii) độ ổn định *trong ống nghiệm*, (iv) thiếu xylosyl hóa serine, và (v) các đặc tính vật lý của protein dung hợp GLP1-GDF15 (ví dụ, độ ổn định *trong cơ thể sống*, độ hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* (tức GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 và GDF15 hoặc protein biến thể GDF15 có thể có hoạt tính đồng vận tương ứng trên GLP1R và GDF15R hay không), và (vi) sự cân bằng mong muốn của dược lý đồng vận kép *trong cơ thể sống.*

Đối với phương pháp điều trị protein dung hợp mang đến dược lý kép trong một phân tử, điều quan trọng là phải điều chỉnh đúng đặc tính dược động học/dược lực học (PK/PD) của từng gốc để cả hai chất chủ vận đều nằm trong phạm vi điều trị với liều lượng dự định. Nghiên cứu mở rộng về nhiều protein dung hợp yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15)-peptit giống như glucagon khác nhau 1 bao gồm các tổ hợp khác nhau của trình tự peptit biến thể GLP1 hoặc peptit GLP1, trình tự peptit cầu nối thứ nhất, trình tự protein albumin huyết thanh, trình tự peptit cầu nối thứ hai và trình tự protein biến thể GDF15 hoặc GDF15 dẫn đến việc phát hiện các phân tử mới có đặc tính duy nhất là phân bổ liều lượng cân bằng tối ưu của chất chủ vận GLP1 và GDF15. Các protein dung hợp GLP1-GDF15 mới này đã được chứng minh là có hiệu quả trong việc gắn kết GDF15R (GFRAL)*trong cơ thể sống* dưới dạng HSA-GDF15, khi được sử dụng ở phạm vi liều lượng cụ thể (xem Ví dụ 11). Ngoài ra, protein dung hợp GLP1-GDF15, được dùng ở cùng một phạm vi liều lượng (xem Ví dụ 11), có hiệu quả bất ngờ trong việc gắn kết GLP1R dưới dạng Dulaglutit (GLP1-Fc) và không có tác dụng phụ bất lợi, mặc dù có tiếp xúc gốc GLP1 cao hơn 10-30 lần so với Dulaglutit. Việc phân phối các peptit GLP1 dưới dạng dung hợp bằng HSA-GDF15 đã bất ngờ thay đổi độ hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* của gốc GLP1 nhưng vẫn cho phép protein dung hợp yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15)-peptit giống như glucagon mới 1 (GLP1) để đạt được sự cân bằng tối ưu của cả hai chất chủ vận.

Bảng 6: Protein dung hợp GLP1-GDF15

Protein dung hợp GLP1-GDF15	Trình tự protein	SỐ ID TRÌNH TỰ:
1	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGAGGGGAGGGGAGGGGGAGGGGADAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSP	33

	FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLR ETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVA RLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVE SKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETT LEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYK FQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMP CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEV DETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALG LAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGW ADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPA PCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	
2	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGAGGGGAGGGGA DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEV TEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCC AKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKK YLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLD ELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEF AEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSK LKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYA EAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAAD PHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYT KKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVL NQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN AETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMD DFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAPAPAPAPA PAPAPAPAPAPDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREV QVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNP MVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	34
3	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGAPAPAPAPAPAPAPA PAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPDAHKSEVAHRF KDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVAD ESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE CFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARR HPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGK ASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKL VTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKD VFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHE CYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTK KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVL NQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAV MDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAPAPAP APAPAPAPAPAPAPDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVL SPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCV PASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	35

4	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGAPAPAPAPAPAPAPA PAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPDAHKSEVAHRFKDLGEENFK ALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDK SLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDD NPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPE LLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQR LKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKV HTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEK SHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMF LYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVF DEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVS TPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVL HEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFT FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFA AFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAPAPAPAPAPA PAPAPAPAPDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREV QVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASY NPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	36
5	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGAPAPAPAPAPAPAPAP APAPAPAPAPAPAPDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQ QSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVA TLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVM CTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQ AADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLA KYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADF VESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEY KFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRM PCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALE VDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAL GLAPAPAPAPAPAPAPAPAPDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLG WADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTV PAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	37
6	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGAGGGGAGGG GAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGADAHKSEVAHRFKDL GEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADES AENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRH PYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGK ASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKL VTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAK DVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPH ECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYT KKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVV LNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKE FNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKA VMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAPAP APAPAPAPAPAPAPAPDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADW	38

	VLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPC CVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	
7	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSAPAPAPAP APAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPDAHKS EVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAK TCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEP ERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEI ARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDE GKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSK LVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECC EKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDV FLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECY AKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVP QVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLC VLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFT FHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAF VEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAPAPAPAPAPAPAP APAPAPDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTM CIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQ KTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	39
8	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSAPAPAP APAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPDAHKSEVAHRFKDLGEENFKA LVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSL HTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELL FFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHT ECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSH CIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTP TLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLH EKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTF HADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAA FVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAPAPAPAPAPAP APAPAPAPDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQ VTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNP MVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	40
9	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSAPAPAPAP APAPAPAPAPAPDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQS PFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATL RETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCT AFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQA ADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAV ARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAK YICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYET TLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEY KFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRM PCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALE	41

	VDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAL GLAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLG WADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTV PAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	
10	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSGGGGAGG GGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGADAHKSEVAH RFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVA DESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE CFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRH PYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKAS SAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTD LTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLL EKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGM FLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFD EFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPT LVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKT PVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADIC TLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCC KADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAPAPAPAPAPAPAPAPAPAP DHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACP SQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTG VSLQTYDDLLAKDCHCI	42
11	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSGGGGAGG GGAGGGGAGGGGAGGGGADAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIA FAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGD KLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVR PEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKA AFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGER AFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECA DDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCC KHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVN RRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVE LVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKL VAASQAALGLAPAPAPAPAPAPAPAPAPDHCPLGPGRCCRLHTV RASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSL HRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHC I	43
12	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSAPAPAPAP APDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVN EVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLK KYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKL DELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAE FAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISS KLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNY AEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAA	44

	DPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVR YTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSV VLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEF NAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVM DDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAPAPAPAP APAPAPAPAPAPDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPRE VQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYN PMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	
13	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGAPAPAPAPAPAPAPAP APAPDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEM ADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEE TFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFP KAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDS ISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCK NYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCA AADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALL VRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYL SVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKA VMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLAPAPAP APAPAPAPAPAPAPDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPAS YNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	45
14	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSAPAPAP APAPDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETY GEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAF HDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWA VARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRAD LAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSL AADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLR LAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCE LFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKC CKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESL VNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQT ALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAE EGKKLVAASQAALGLGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGG AGGGGAGGGGAGGGGADHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWA DWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVP APCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	46
15	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSP FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLR ETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVA RLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKY	47

	ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVE SKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETT LEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYK FQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMP CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEV DETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALG LGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGG ADHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGAC PSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDT GVSLQTYDDLLAKDCHCI	
16	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGGGGGGGGGGG GGGGGGDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRET YGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAF HDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAV ARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLA KYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA DFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAK TYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFE QLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKH PEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRR PCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVEL VKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKL VAASQAALGLGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGG AGGGGAGGGGADHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPA SYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	48
17	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGAGGGGAGGGG AGGGGADAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRET YGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAF HDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAV ARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLA KYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA DFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAK TYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFE QLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKH PEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRR PCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVEL VKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKL VAASQAALGLGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGG AGGGGAGGGGADHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSP REVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPA SYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	49
18	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGAGGGGAGGGG AGGGGAGGGGADAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQ SPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVA	50

	TLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDV MCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTE CCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAF KAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECAD DRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVL LLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQ NCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGS KCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGLGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGG GAGGGGAGGGGAGGGGADHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWA DWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPA PCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	
19	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGAGGGGAGGGGAGGG GAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGAGGGGADAHKSEVAHRFKDLGE ENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENC DKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKD DNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPE LLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRL KCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHT ECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCI AEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYA RRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLV EEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSR NLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRV TKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKER QIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKET CFAEEGKKLVAASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWAD WVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPC CVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	51
20	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSGAGGGG AGGGGADAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRE TYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCT AFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQ AADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKA WAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDR ADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLL LRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQN CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGS KCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTE SLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKK QTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWAD WVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPA PCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	52

21	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGAGGGGAGGGGA GGGGAGGGGAGGGGADAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQ YLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEV DVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFT ECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAF KAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADD RADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLR LAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELF EQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHP EAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPC FSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVK HKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAA SQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTM CIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQ KTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	53
22	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGAGGGGAGGGGA GGGGAGGGGADAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSP FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLR ETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTA FHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAA DKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVA RLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKY ICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVE SKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETT LEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYK FQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMP CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEV DETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALG LGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSD HCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPS QFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGV SLQTYDDLLAKDCHCI	54
23	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQY LQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCT VATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVD VMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTE CCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFK AWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDR ADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSL AADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLA KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQ LGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFS ALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHK PKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQ AALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG	55

	GGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIG ACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKT DTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	
24	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPF EDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRE TYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAF HDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAAD KAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYI CENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVE SKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETT LEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYK FQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMP CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEV DETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKAT KEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALG LGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSD HCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPS QFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGV SLQTYDDLLAKDCHCI	56
25	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGASAPAPAPAPAPAPAP APAPAPGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETY GEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHD NEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKA ACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICE NQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLE KCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCA EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDE TYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDHC PLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFR AANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQ TYDDLLAKDCHCI	57
26	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGASGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEE NFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCD KSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDD NPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELL FFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKC ASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECC HGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEV ENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH PDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEP QNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNL	58

	GKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTK CCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQI KKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETC FAEEGKKLVAASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWV LSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVP ASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	
27	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSASGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDAHKSEVAHR FKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVAD ESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPY FYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSA KQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEK SHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFL YEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEF KPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLV EVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPV SDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLS EKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKAD DKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGW ADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPA PCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	59
28	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSASAPAPAP APAPAPAPAPAPAPGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQY LQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCT VATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVD VMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTE CCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFK AWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDR ADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSL AADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLA KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQ LGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFS ALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHK PKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQ AALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIG ACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKT DTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	60
29	HSEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIEWLVKGRASAPAPAPAPAPAPAPA PAPAPGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDH VKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYG EMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDN EETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAA CLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQ RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICEN	61

	QDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKD VCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEK CCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQN ALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAE DYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDET YVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQ LKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDHCP LGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFR AANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQ TYDDLLAKDCHCI	
30	HSEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIEWLVKGRASGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENF KALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKS LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFF AKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCAS LQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCH GDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVE NDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHP DYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ NLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLG KVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKC CTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCF AEEGKKLVAASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWV LSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVP ASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	62
31	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGSGGGGSGGG GSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHD NEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADK AACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVA RLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLA KYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA DFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLA KTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELF EQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCK HPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVN RRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEG KKLVAASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVL SPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCV PASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	63
32	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSGGGGSGG GGSGGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFED HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETY	64

	GEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHD NEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKA ACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICE NQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESK DVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLE KCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQ NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCA EDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDE TYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKE QLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDHC PLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFR AANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQ TYDDLLAKDCHCI	
33	HSEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIEWLVKGRASGGGGSGGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEV TEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETF LKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQR FPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICE NQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVES KDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYET TLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGE YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAK RMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELV KHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLV AASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREV QVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASY NPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	65
34	HSEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIEWLVKGRASAPAPAPAPAPGSD AHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNE VTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMAD CCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEET FLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAC LLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQ RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYIC ENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVE SKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLG EYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPC FSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELV KHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLV AASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREV QVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASY NPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	66

35	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSASGGGGS GGGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYG EMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHD NEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADK AACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVAR LSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAK YICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADF VESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTY ETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQL GEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPE AKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRP CFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVEL VKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKL VAASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREV QVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYN PMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	67
36	HGEGTFTSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNGGPSSGAPPPSASAPAPAP APAPGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYG EMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHD NEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKA ACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYIC ENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVES KDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETT LEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYK FQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMP CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEV DETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKA TKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAAL GLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS DHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACP SQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTG VSLQTYDDLLAKDCHCI	68
37	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGASGGGGSGGGGSDA HKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEV TEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADC CAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETF LKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACL LPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQR FPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICE NQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVES KDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYET TLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGE YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAK RMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCF SALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELV KHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLV AASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG	69

	GGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREV QVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASY NPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	
38	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGASAPAPAPAPAPGSD AHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNE VTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMAD CCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEET FLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAC LLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQ RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYIC ENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVE SKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYE TTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLG EYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEA KRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPC FSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELV KHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLV AASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREV QVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASY NPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	70
39	HSEGTFTSDVSSYLEGQAAKEFIEWLVKGRGGGGSGGGGSGGGGS DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNE VTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMAD CCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETF LKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLL PKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRF PKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQ DSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKD VCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLE KCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKF QNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMP CAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALE VDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPK ATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQA ALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCI GACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQ KTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	71
40	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGSGGGGSGGG GSDAHKSEVAHRFKDLGEETFKALVLVAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHD NEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAARYKAAFTECCQAADK AACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVA RLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLA KYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCLAEVENDEMPADLPSLA ADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRL AKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCEL FEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCC	72

	KHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTA LAELVKHKPKATKEQLKTVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEE GKKLVAASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWV LSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCC VPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	
41	HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGSGGGGSGGG GSDAHKSEVAHRFKDLGEETFKALVLVAFAQYLQQSPFEDHVKL VNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGE MADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHD NEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAARYKAAFTECCQAADK AACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVA RLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLA KYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCLAEVENDEMPADLPSLA ADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRL AKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCEL FEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCC KHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLV NRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTA LAELVKHKPKATKEQLKTVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEE GKKLVAASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWV LSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCC VPASYNPMVLRQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	73
42	EGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGSGGGGSGGGGSD AHKSEVAHRFKDLGEETFKALVLVAFAQYLQQSPFEDHVKLVNE VTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMAD CCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEET FLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAARYKAAFTECCQAADKAAC LLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQ RFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYIC ENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCLAEVENDEMPADLPSLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTY ETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQL GEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPE AKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRP CFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALAEL VKHKPKATKEQLKTVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKL VAASQAALGLGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPRE VQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPAS YNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI	74

Vectơ và polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15

Trong phương án chung khác, sáng chế đề cập đến axit nucleic đã phân lập mã hóa protein dung hợp GLP1-GDF15 của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rằng trình tự mã hóa của protein có thể được thay đổi (ví dụ,

được thay thế, bị làm mất đoạn, bị chèn đoạn) mà không thay đổi trình tự axit amin của protein. Theo đó, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rằng trình tự axit nucleic mã hóa protein dung hợp theo sáng chế có thể được thay đổi mà không cần thay đổi trình tự axit amin của các protein này.

Theo một phương án chung khác, sáng chế đề cập đến vectơ bao gồm axit nucleic được phân lập mã hóa protein dung hợp theo sáng chế. Có thể sử dụng vectơ bất kỳ được Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật biết đến theo quan điểm của sáng chế, như plasmit, cosmid, vectơ thực khuẩn hoặc vectơ vi rút. Trong một số phương án, vectơ là vectơ biểu hiện tái tổ hợp như plasmit. Vectơ có thể bao gồm phần tử bất kỳ để thiết lập chức năng thông thường của vectơ biểu hiện, ví dụ, vùng khởi động, phần tử bám ribô thể, vùng kết thúc, vùng tăng cường, dấu ấn chọn lọc, hoặc gốc sao chép. Vùng khởi động có thể là vùng khởi động cơ định, cảm ứng hoặc ức chế. Số vectơ biểu hiện có thể đưa axit nucleic đến tế bào đã được biết đến trong ngành và có thể được sử dụng trong tài liệu này để sản xuất protein dung hợp trong tế bào. Có thể sử dụng các kỹ thuật tạo dòng thông thường hoặc tổng hợp gen nhân tạo để tạo vectơ biểu hiện tái tổ hợp theo phương án của sáng chế.

Theo một phương án chung khác, sáng chế đề cập đến tế bào chủ bao gồm axit nucleic được phân lập mã hóa protein dung hợp theo sáng chế. Bất kỳ tế bào chủ nào mà những người có trình độ trong ngành đã biết theo quan điểm của sáng chế đều có thể được dùng để biểu hiện tái tổ hợp các protein dung hợp theo sáng chế. Theo một số phương án, tế bào chủ là tế bào *E. coli* TG1 hoặc BL21, tế bào CHO-DG44 hoặc CHO-K1 hoặc tế bào HEK293. Theo các phương án cụ thể, vectơ biểu hiện tái tổ hợp được biến đổi thành tế bào chủ bằng các phương pháp thông thường như truyền hóa chất, sốc nhiệt hoặc công nghệ điện di, trong đó vectơ biểu hiện tái tổ hợp được tích hợp ổn định vào bộ gen tế bào chủ để axit nucleic tái tổ hợp được biểu hiện hiệu quả.

Theo một phương án chung khác, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất protein dung hợp theo sáng chế, bao gồm bước nuôi cấy tế bào chứa axit nucleic mã hóa protein dung hợp trong điều kiện để tạo ra protein dung hợp theo sáng chế, và bước thu hồi protein dung hợp từ tế bào hoặc mẻ nuôi cấy tế bào (ví dụ, từ lớp bề mặt). Protein dung hợp đã biểu hiện có thể được thu hoạch từ tế bào và được tinh chế theo các kỹ thuật thông thường đã được biết đến trong ngành và như được mô tả trong tài liệu này.

Dược phẩm

Theo một phương án chung khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm, bao gồm protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế và chất mang dược dụng. Thuật ngữ "dược phẩm" như được sử dụng trong tài liệu này có nghĩa là sản phẩm bao gồm protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế cùng với chất mang dược dụng. Protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế và các chế phẩm bao gồm chúng cũng hữu ích trong sản xuất dược phẩm cho các ứng dụng điều trị được đề cập trong tài liệu này.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất mang" chỉ tá dược, chất pha loãng, chất làm đầy, dung dịch đệm, muối, chất ổn định, chất làm tan, dầu, lipit, lipit chứa túi tinh, vi cầu, bao nang trong hạt mỡ, hoặc vật liệu khác phổ biến trong ngành để sử dụng trong dược phẩm. Cần hiểu rằng các đặc trưng của chất mang, tá dược hoặc chất pha loãng sẽ phụ thuộc vào đường dùng được áp dụng cụ thể. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất mang dược dụng" chỉ vật liệu không gây độc hại và không ảnh đến hiệu quả của chế phẩm theo sáng chế hoặc hoạt tính sinh học của chế phẩm theo sáng chế. Theo các phương án cụ thể, theo quan điểm của bản mô tả này, chất mang dược dụng bất kỳ phù hợp để dùng trong dược phẩm peptit có thể được sử dụng trong sáng chế.

Các muối axit/anion dược dụng để sử dụng trong sáng chế bao gồm, và không giới hạn axetat, benzen sulfonat, benzoat, bicacbonat, bitartrat, bromua, canxi eđetat, camsylat, cacbonat, clorua, xitrat, đihyđroclorua, eđetat, eđisylat, estolat, esylat, fumarat, glyceptat, gluconat, glutamat, glycollylarsanilat, hexylresorcinat, hyđrabamin, hyđrobromua, hyđroclorua, hyđroxynaphthoat, iođua, isethionat, lactat, lactobionat, malat, maleat, manđelat, mesylat, metylbromua, metylnitrat, metylsulfat, mucat, napsylat, nitrat, pamoat, pantothenat, photphat/điphotphat, polygalacturonat, salixylat, stearat, subaxetat, sucxinat, sulfat, tannat, tartrat, teoclat, tosylat và triethiođit. Các axit hữu cơ hoặc vô cơ bao gồm, và không giới hạn, axit hyđriođic, percloric, sulfuric, phosphoric, propionic, glycolic, metansulfonic, hyđroxyetansulfonic, oxalic, 2-naphtalensulfonic, p-toluensulfonic, xyclohexansulfamic, sacarinic hoặc trifloaxetic.

Muối bazơ/cation dược dụng bao gồm, và không giới hạn trong các chất sau: nhôm, 2-amin-2-hyđroxymetyl-propan-1,3-điol (còn gọi là tris(hyđroxymetyl) amoni, benzathin, t-butylamin, canxi, cloprocain, cholin, xyclohexylamin, đietanolamin,

etylenđiamin, liti, L-lysin, magiê, meglumin, N-metyl-D-glucamin, piperiđin, kali, procain, quinin, natri, trietanolamin hoặc kẽm.

Theo một số phương án của sáng chế, dược phẩm được đề xuất bao gồm protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế, với lượng nằm trong khoảng từ 0,001 mg/ml đến khoảng 100 mg/ml, từ khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml hoặc từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 25 mg/ml. Dược phẩm dụng có thể có độ pH bằng từ khoảng 3,0 đến khoảng 10, ví dụ từ khoảng 3 đến khoảng 7, hoặc từ khoảng 5 đến khoảng 9. Chế phẩm có thể còn bao gồm ít nhất một thành phần được chọn từ nhóm bao gồm hệ chất đệm, (các) chất bảo quản, (các) chất trương lực, (các) chất tạo chelat, (các) chất ổn định và (các) chất hoạt động bề mặt.

Chế phẩm bao gồm các hoạt chất dược với các chất mang dược dụng đã được biết đến trong ngành, ví dụ, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Khoa học và thực hành dược phẩm) (ví dụ, Ấn bản thứ 21 (2005), và các ấn bản bất kỳ sau đó). Các ví dụ không giới hạn về thành phần bổ sung bao gồm: chất đệm, chất pha loãng, dung môi, chất điều hòa trương lực, chất bảo quản, chất ổn định, và chất tạo chelat. Một hoặc nhiều chất mang dược dụng có thể được sử dụng trong điều chế dược phẩm của sáng chế.

Trong một phương án của sáng chế, dược phẩm là chế phẩm dạng lỏng. Ví dụ ưu tiên về chế phẩm dạng lỏng là chế phẩm chứa nước, tức là chế phẩm có chứa nước. Chế phẩm dạng lỏng có thể bao gồm dung dịch, huyền phù, nhũ tương, vi nhũ tương, gel, v.v. Chế phẩm chứa nước thường bao gồm ít nhất 50 % khối lượng nước, hoặc ít nhất 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, hoặc ít nhất 95 % khối lượng nước.

Trong một phương án, dược phẩm có thể được bào chế thành dung dịch tiêm có thể được tiêm, ví dụ, qua dụng cụ tiêm (ví dụ, ống tiêm hoặc bơm truyền). Dung dịch tiêm có thể được truyền, ví dụ, dưới da, trong cơ, trong màng bụng, hoặc trong tĩnh mạch.

Theo phương án khác, dược phẩm là chế phẩm dạng rắn, ví dụ, chế phẩm được sấy khô đông lạnh hoặc sấy phun, mà có thể được sử dụng như nguyên trạng, hoặc bác sĩ hoặc bệnh nhân thêm dung môi và/hoặc chất pha loãng vào trước khi dùng. Dạng bào chế rắn có thể bao gồm viên nén, như viên được ép, và/hoặc viên nén được bao

phủ và viên nang (ví dụ như viên nang gelatin rắn hoặc mềm). Dược phẩm có thể ở dạng gói, kẹo, bột, hạt, viên ngậm, hoặc bột để pha hoàn nguyên dung dịch, chẳng hạn.

Các dạng bào chế có thể giải phóng ngay tức thì, trong trường hợp này chúng có thể bao gồm chất mang tan trong nước hoặc có thể phân tán, hoặc chúng có thể giải phóng chậm, giải phóng lâu dài, hoặc giải phóng biến đổi, trong trường hợp này chúng có thể bao gồm các polyme không tan trong nước điều hòa tốc độ phân ly của dạng bào chế trong đường dạ dày ruột.

Theo các phương án khác, dược phẩm có thể được truyền bằng đường trong mũi, trong miệng hoặc dưới lưỡi.

Độ pH trong chế phẩm chứa nước có thể là từ 3 đến 10. Theo một phương án của sáng chế, độ pH của chế phẩm bằng từ khoảng 7,0 đến khoảng 9,5. Theo phương án khác của sáng chế, độ pH của chế phẩm bằng từ khoảng 3,0 đến khoảng 7,0.

Theo phương án khác của sáng chế, dược phẩm bao gồm chất đệm. Các ví dụ không hạn chế về chất đệm bao gồm: arginin, axit aspartic, bixin, xitrat, đinatri hyđro phosphat, axit fumaric, glyxin, glyxylglyxin, histiđin, lysin, axit maleic, axit malic, natri axetat, natri carbonat, natri đihyđro phosphat, natri phosphat, sucxinat, axit tartaric, trixin, và tris(hyđroxymetyl)-aminometan, và hỗn hợp của chúng. Chất đệm có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Dược phẩm bao gồm từng chất đệm cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Theo phương án khác của sáng chế, dược phẩm bao gồm chất bảo quản. Các ví dụ không hạn chế về chất bảo quản bao gồm: benzethoni clorua, axit benzoic, rượu benzylic, bronopol, butyl 4-hyđroxybenzoat, clobutanol, clocresol, clohexiđin, clophenesin, o-cresol, m-cresol, p-cresol, etyl 4-hyđroxybenzoat, imidurea, metyl 4-hyđroxybenzoat, phenol, 2-phenoxyetanol, 2-phenyletanol, propyl 4-hyđroxybenzoat, natri đehyđroaxetat, thiomerosal, và hỗn hợp của chúng. Chất bảo quản có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Dược phẩm bao gồm từng chất đệm cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Theo phương án khác của sáng chế, dược phẩm bao gồm chất trương lực. Các ví dụ không hạn chế của phương án bao gồm muối (như natri clorua), axit amin (như glyxin, histiđin, arginin, lysin, isoleuxin, axit aspartic, tryptophan, và threonin), alditol (như glyxerol, 1,2-propanđiol propylenglycol), 1,3-propanđiol, và 1,3-butanđiol), polyetylenglycol (ví dụ PEG400), và hỗn hợp của nó. Ví dụ khác về chất trương lực bao gồm đường. Các ví dụ không hạn chế về đường có thể là mono-, đi-, hoặc polysacarit, hoặc glucan tan trong nước, bao gồm, ví dụ như fructoza, glucoza, mannoza, sorboza, xyloza, maltoza, lactoza, sucroza, trehaloza, đextran, pululan, đextrin, xyclođextrin, alpha và beta- HPCD, tinh bột tan, tinh bột hyđroxyetyl và natri carboxymetylxenluloza. Ví dụ khác về chất trương lực là rượu đường, trong đó thuật ngữ "rượu đường" được xác định là C(4-8) hyđrocarbon có ít nhất một nhóm —OH. Các ví dụ không hạn chế về rượu bao gồm manitol, sorbitol, inositol, galactitol, dulxitol, xylitol, và arabitol. Dược phẩm bao gồm từng chất trương lực cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế. Chất bảo quản có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Dược phẩm bao gồm từng chất trương lực cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Theo phương án khác của sáng chế, dược phẩm bao gồm chất tạo chelat. Các ví dụ không giới hạn về chất tạo chelat bao gồm axit xitric, axit aspartic, muối của axit etylenđiamintetraaxetic (EDTA), và hỗn hợp của chúng. Chất tạo chelat có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Dược phẩm bao gồm từng chất tạo chelat cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Theo phương án khác của sáng chế, dược phẩm bao gồm chất ổn định. Các ví dụ không hạn chế về các chất ổn định bao gồm một hoặc nhiều chất ức chế cộng gộp, một hoặc nhiều chất ức chế oxy hóa, một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt, và/hoặc một hoặc nhiều chất ức chế proteaza.

Theo phương án khác của sáng chế, dược phẩm bao gồm chất ổn định, trong đó chất ổn định này bao gồm carboxy-/hyđroxyxenluloza và chất dẫn xuất của nó (như HPC, HPC-SL, HPC-L và HPMC), xyclođextrin, 2-metylthioetanol, polyetylen glycol (như PEG 3350), rượu polyvinyl (PVA), polyvinyl pyroliđon, muối (như natri clorua),

chất chứa lưu huỳnh như monothioglyxerol), hoặc axit thioglycolic. Chất bảo quản có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Dược phẩm bao gồm từng chất ổn định cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Theo các phương án khác của sáng chế, dược phẩm bao gồm một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt, tốt hơn là bao gồm chất hoạt động bề mặt, ít nhất một chất hoạt động bề mặt, hoặc hai chất hoạt động bề mặt khác nhau. Thuật ngữ "chất hoạt động bề mặt" chỉ phân tử bất kỳ hoặc ion bao gồm một phần tan trong nước (ưa nước), và phần tan trong chất béo. Chất hoạt động bề mặt có thể, ví dụ, được chọn từ nhóm bao gồm chất hoạt động bề mặt anion, chất hoạt động bề mặt cation, chất hoạt động bề mặt không ion và/hoặc chất hoạt động bề mặt ion lưỡng tính. Chất hoạt động bề mặt có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Dược phẩm bao gồm từng chất hoạt động bề mặt cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Trong phương án khác của sáng chế, dược phẩm bao gồm một hoặc nhiều chất ức chế proteaza, như, ví dụ, EDTA, và/hoặc axit benzamiđin hyđroclorua (HCl). Chất hoạt động bề mặt có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc có mặt trong tổ hợp, với nồng độ bằng khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Dược phẩm bao gồm từng chất ức chế proteaza cụ thể này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Dược phẩm của sáng chế có thể bao gồm lượng axit amin dạng bazơ đủ để giảm sự hình thành kết tụ polypeptit trong quá trình bảo quản chế phẩm. Thuật ngữ "bazơ axit amin" chỉ một hoặc nhiều axit amin (như methionin, histiđin, imiđazol, arginin, lysin, isoleuxin, axit apartic, tryptophan, threonin), hoặc chất tương tự của chúng. Axit amin bất kỳ có thể có mặt dưới dạng bazơ tự do hoặc dạng muối. Chất đồng phân lập thể bất kỳ (tức là, L, D, hoặc hỗn hợp của nó) của bazơ axit amin có thể có mặt. Bazơ axit amin có thể có mặt riêng biệt theo từng chất hoặc kết hợp với bazơ axit amin khác, với nồng độ bằng khoảng 0,01 mg/ml đến khoảng 50 mg/ml, ví dụ từ khoảng 0,1 mg/ml đến khoảng 20 mg/ml. Dược phẩm bao gồm từng bazơ axit amin này trong các phương án thay thế của sáng chế.

Muối dược dụng của protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế bao gồm muối thông thường không độc hoặc muối amoni

bậc bốn được tạo thành từ axit hoặc bazơ vô cơ hoặc hữu cơ. Ví dụ về các muối axit trên bao gồm axetat, ađipat, benzoat, benzen sulfonat, xitrat, long não, đođexylsulfat, hyđroclorua, hyđrobromua, lactat, maleat, metansulfonat, nitrat, oxalat, pivalat, propionat, suxinat, sulfat và tartrat. Các muối bazơ bao gồm muối amoni, muối của kim loại kiềm như muối natri và muối kali, muối của kim loại kiềm thổ như muối canxi và muối magiê, muối có bazơ hữu cơ như muối đixyclohexylamino và muối có axit amin như arginin. Ngoài ra, các nhóm có tính bazơ chứa nitơ có thể được tạo thành bazơ bậc bốn, ví dụ bằng các halogenua alkyl.

Các dược phẩm của sáng chế có thể được sử dụng theo bất cứ phương thức nào đảm bảo mục đích sử dụng của chế phẩm. Ví dụ các phương thức này bao gồm sử dụng qua đường ngoài ruột, dưới da, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong màng bụng, qua da, trong miệng hoặc mắt. Có thể sử dụng qua đường miệng. Các chế phẩm thích hợp để sử dụng qua đường ngoài ruột bao gồm các dung dịch chứa nước của liên hợp có hoạt tính ở dạng tan trong nước, ví dụ các muối tan trong nước, dung dịch axit, dung dịch kiềm, dung dịch đextroza-nước, dung dịch hyđrat cacbon đẳng trương và các phức hệ bao thể.

Sáng chế cũng bao gồm phương pháp tạo dược phẩm bao gồm bước trộn chất mang dược dụng với protein dung hợp GLP1-GDF15 bất kỳ và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế. Ngoài ra, sáng chế bao gồm dược phẩm được tạo ra bằng cách trộn một hoặc nhiều chất mang dược dụng với protein dung hợp GLP1-GDF15 bất kỳ và/hoặc polynucleotit GLP1-GDF15 theo sáng chế.

Ngoài ra, protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế có thể có một hoặc nhiều chất đa hình hoặc dạng tinh thể vô định hình, và do đó cũng được dự kiến là thuộc phạm vi của sáng chế. Ngoài ra, protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 có thể tạo thành solvat, ví dụ với nước (tức hydrat) hoặc dung môi hữu cơ thông thường. Như được sử dụng trong tài liệu này, thuật ngữ "solvat" nghĩa là sự liên kết vật lý của protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế với một hoặc nhiều phân tử dung môi. Sự liên kết vật lý này liên quan đến các mức độ liên kết cộng hóa trị và ion khác nhau, bao gồm liên kết hyđrô. Trong một số trường hợp, solvat sẽ có khả năng phân lập, ví dụ khi một hoặc nhiều phân tử dung môi được kết hợp trong mạng tinh thể của chất rắn tinh thể. Thuật ngữ "solvat" có ý bao hàm cả

solvat pha dung dịch và solvat có thể được phân lập. Có rất nhiều ví dụ về solvat phù hợp như các etanolat, metanolat và tương tự.

Sáng chế này nhằm bao hàm các chất đa hình và solvat của protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế. Vì vậy, trong các phương pháp điều trị của sáng chế này, thuật ngữ "cho dùng" bao gồm phương thức điều trị, cải thiện hoặc phòng ngừa hội chứng, rối loạn hoặc bệnh được mô tả trong tài liệu này bằng protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế, hoặc chất đa hình hay solvat của hợp chất đó mà rõ ràng sẽ có trong phạm vi của sáng chế mặc dù không được bộc lộ cụ thể.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế để dùng làm dược phẩm.

Sáng chế bao gồm tiền dược trong phạm vi của protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế này. Nhìn chung, các tiền dược này sẽ là chất dẫn xuất chức năng của protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15, có thể dễ dàng chuyển đổi *trong cơ thể sống* thành protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 cần thiết. Do đó, trong các phương pháp điều trị theo sáng chế, thuật ngữ "cho dùng" bao gồm việc điều trị nhiều rối loạn khác nhau được mô tả bằng protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 được bộc lộ cụ thể hoặc bằng protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15, có thể không được bộc lộ cụ thể, nhưng chuyển đổi thành protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 đã xác định *trong cơ thể sống* sau khi cho bệnh nhân dùng. Các quy trình truyền thống về cách chọn lọc và điều chế các dẫn xuất tiền dược phù hợp được mô tả, ví dụ trong "Kiểu tiền dược" ("Design of Prodrugs"), btv. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

Trong quy trình bất kỳ để điều chế protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế, có thể sẽ cần và/hoặc phát sinh nhu cầu bảo vệ các nhóm nhạy cảm hoặc phản ứng trên bất kỳ phân tử nào liên quan. Điều này có thể đạt được bằng các nhóm bảo vệ thông dụng như các nhóm bảo vệ được mô tả trong Các nhóm bảo vệ trong hóa học hữu cơ, btv. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; và T.W. Greene & P.G.M. Wuts, Các nhóm bảo vệ trong tổng hợp hữu cơ, John Wiley & Sons, 1991, mỗi tài liệu này sau đây được hợp nhất vào bản mô tả

này bằng viện dẫn vì tất cả các lý do. Các nhóm bảo vệ có thể được loại bỏ ở giai đoạn thuận tiện tiếp theo bằng các phương pháp được biết đến trong ngành.

Phương pháp sử dụng

Sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa, điều trị hoặc cải thiện hội chứng qua trung gian thụ thể GDF15 (GDF15R, GFRAL) và/hoặc hội chứng, rối loạn hoặc bệnh qua trung gian thụ thể GLP1 ở đối tượng cần điều trị, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc dược phẩm theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp ngăn ngừa, điều trị, trì hoãn sự khởi phát hoặc cải thiện rối loạn, bệnh, tình trạng hay một hoặc nhiều triệu chứng bất kỳ của rối loạn, bệnh hoặc tình trạng đã nêu ở đối tượng cần điều trị, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc dược phẩm theo sáng chế.

Theo các phương án cụ thể, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng được chọn từ nhóm bao gồm béo phì, tiểu đường tuýp I hoặc tuýp II, hội chứng chuyển hóa (tức Hội chứng X), kháng insulin, suy giảm dung nạp glucoza (ví dụ như không dung nạp glucoza), tăng đường huyết, tăng insulin huyết, tăng triglixerit huyết, giảm glucoza huyết do tăng insulin huyết bẩm sinh (CHI), rối loạn mỡ máu, xơ vữa động mạch, bệnh thận do tiểu đường và các yếu tố nguy cơ tim mạch khác như tăng huyết áp và yếu tố nguy cơ tim mạch liên quan đến nồng độ cholesterol và/hoặc lipit không được kiểm soát, loãng xương, viêm, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh thận, bệnh chàm, ngưng thở khi ngủ, thoái hóa khớp, hội chứng buồng trứng đa nang, hội chứng thận mãn tính, trầm cảm và/hoặc ung thư.

Theo các phương án cụ thể, lượng điều trị hữu hiệu là lượng điều trị đủ để đạt một, hai, ba, bốn hoặc nhiều hiệu quả sau đây: (i) giảm hoặc cải thiện mức độ nghiêm trọng của bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (ii) giảm thời gian bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (iii) ngăn chặn sự tiến triển bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (iv) làm thoái lui bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (v) ngăn chặn sự phát triển hoặc khởi phát bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (vi) ngăn chặn sự tái phát bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (vii) giảm

việc nhập viện của đối tượng bị bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (viii) giảm thời gian nằm viện của đối tượng bị bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (ix) tăng khả năng sống của đối tượng bị bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan; (xi) ức chế hoặc làm giảm bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị hoặc triệu chứng liên quan ở đối tượng; (xii) tăng cường hoặc cải thiện tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa của liệu pháp khác. và/hoặc (xiii) cải thiện chất lượng cuộc sống của đối tượng mắc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng cần điều trị.

Liều hoặc lượng điều trị hữu hiện có thể thay đổi theo nhiều yếu tố, như bệnh, chứng rối loạn hoặc tình trạng được điều trị, cách sử dụng, vị trí đích, tình trạng sinh lý học của đối tượng (bao gồm, ví dụ, tuổi, cân nặng, sức khỏe), dù đối tượng là người hoặc con vật, dược phẩm khác được sử dụng, và dù việc điều trị là phòng ngừa hoặc chữa bệnh. Các liều điều trị được chuẩn độ tối ưu để tối ưu hóa tính an toàn và hiệu quả.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "trị bệnh", "trị", và "điều trị" đều chỉ việc cải thiện, đảo ngược ít nhất một thông số cơ thể có thể đo được liên quan đến bệnh, rối loạn hoặc tình trạng, làm chậm sự tiến triển hoặc phát triển, mà có thể, nhưng không nhất thiết, được thể hiện ra ở đối tượng. Thuật ngữ "trị bệnh", "trị", và "điều trị" có thể chỉ việc dẫn đến sự thoái lui, ngăn chặn hoặc ít nhất làm chậm sự tiến triển của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng. Theo phương án cụ thể, "trị bệnh", "trị", và "điều trị" chỉ sự làm giảm nhẹ, ngăn chặn sự tiến triển hoặc khởi phát, hoặc giảm thời gian diễn ra một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến bệnh, rối loạn hoặc tình trạng. Theo phương án cụ thể, "trị bệnh", "trị", và "điều trị" chỉ việc ngăn chặn sự tái phát của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng. Theo phương án cụ thể, "trị bệnh", "trị", và "điều trị" chỉ mức tăng thời gian sống sót của đối tượng mắc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng. Theo phương án cụ thể, "trị bệnh", "trị", và "điều trị" chỉ việc loại bỏ bệnh, rối loạn hoặc tình trạng ở đối tượng.

Theo một phương án, sáng chế cũng đề xuất phương pháp phòng ngừa, điều trị, trì hoãn sự khởi phát hoặc cải thiện bệnh béo phì hoặc một hay nhiều triệu chứng bất kỳ của bệnh béo phì ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc dược phẩm theo sáng chế. Trong một số phương án, cân nặng của đối tượng giảm ở mức, ví dụ, bằng từ khoảng 0,01 % đến

khoảng 0,1 %, bằng từ khoảng 0,1 % đến khoảng 0,5 %, bằng từ khoảng 0,5 % đến khoảng 1 %, bằng từ khoảng 1 % đến khoảng 5 %, bằng từ khoảng 2 % đến khoảng 3 %, bằng từ khoảng 5 % đến khoảng 10 %, bằng từ khoảng 10 % đến khoảng 15 %, bằng từ khoảng 15 % đến khoảng 20 %, bằng từ khoảng 20 % đến khoảng 25 %, bằng từ khoảng 25 % đến khoảng 30 %, bằng từ khoảng 30 % đến khoảng 35 %, bằng từ khoảng 35 % đến khoảng 40 %, bằng từ khoảng 40 % đến khoảng 45 % hoặc bằng từ khoảng 45 % đến khoảng 50 % so với cân nặng của đối tượng trước khi cho dùng protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15, dược phẩm, dạng bào chế hoặc dược phẩm bất kỳ theo sáng chế được mô tả trong tài liệu này, hoặc so với đối tượng đối chứng không nhận được protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm bất kỳ hoặc các tổ hợp theo sáng chế được mô tả trong tài liệu này.

Trong một số phương án, sự giảm cân nặng cơ thể được duy trì, ví dụ, trong khoảng 1 tuần, trong khoảng 2 tuần, trong khoảng 3 tuần, trong khoảng 1 tháng, trong khoảng 2 tháng, trong khoảng 3 tháng, trong khoảng 4 tháng, trong khoảng 5 tháng, trong khoảng 6 tháng, trong khoảng 7 tháng, trong khoảng 8 tháng, trong khoảng 9 tháng, trong khoảng 10 tháng, trong khoảng 11 tháng, trong khoảng 1 năm, trong khoảng 1,5 năm, trong khoảng 2 năm, trong khoảng 2,5 năm, trong khoảng 3 năm, trong khoảng 3,5 năm, trong khoảng 4 năm, trong khoảng 4,5 năm, trong khoảng 5 năm, trong khoảng 6 năm, trong khoảng 7 năm, trong khoảng 8 năm, trong khoảng 9 năm, trong khoảng 10 năm, trong khoảng 15 năm, hoặc trong khoảng 20 năm.

Sáng chế này đề xuất phương pháp phòng ngừa, điều trị, trì hoãn sự khởi phát hoặc cải thiện hội chứng, rối loạn hoặc bệnh, hoặc một hay nhiều triệu chứng của hội chứng, rối loạn hoặc bệnh này ở đối tượng cần điều trị, trong đó hội chứng, rối loạn hoặc bệnh đã nêu được chọn từ nhóm bao gồm bệnh béo phì, bệnh đái tháo đường tuýp I hoặc II, hội chứng chuyển hóa (tức Hội chứng X), kháng insulin, suy giảm dung nạp glucoza (ví dụ như không dung nạp glucoza), tăng đường huyết, tăng insulin huyết, tăng triglixerit huyết, giảm glucoza huyết do tăng insulin huyết bẩm sinh (CHI), rối loạn mỡ máu, xơ vữa động mạch, bệnh thận do tiểu đường và các yếu tố nguy cơ tim mạch khác như tăng huyết áp và yếu tố nguy cơ tim mạch liên quan đến nồng độ cholesterol và/hoặc lipit không được kiểm soát, loãng xương, viêm, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh thận,

bệnh chàm, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc dược phẩm theo sáng chế.

Trong bản mô tả này, hội chứng chuyển hóa đề cập đến đối tượng có một hoặc nhiều triệu chứng bất kỳ sau đây: lượng đường trong máu cao (ví dụ, đường huyết lúc đói cao), huyết áp cao, nồng độ cholesterol bất thường (ví dụ, nồng độ HDL thấp), nồng độ triglyxerit trong máu bất thường (ví dụ, triglyxerit trong máu cao), vòng eo lớn (tức là chu vi vòng eo), tăng mỡ trong vùng bụng, kháng insulin, không dung nạp glucose, tăng nồng độ protein phản ứng C (nghĩa là trạng thái tiền viêm) và tăng nồng độ chất ức chế hoạt hóa plasminogen trong huyết tương 1 và nồng độ fibrinogen (nghĩa là trạng thái tiền huyết khối).

Sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm lượng thu nạp thức ăn ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc dược phẩm theo sáng chế. Trong một số phương án, lượng thu nạp thức ăn của đối tượng được giảm ở mức, ví dụ, bằng từ khoảng 0,01 % đến khoảng 0,1 %, bằng từ khoảng 0,1 % đến khoảng 0,5 %, bằng từ khoảng 0,5 % đến khoảng 1 %, bằng từ khoảng 1 % đến khoảng 5 %, bằng từ khoảng 2 % đến khoảng 3 %, bằng từ khoảng 5 % đến khoảng 10 %, bằng từ khoảng 10 % đến khoảng 15 %, bằng từ khoảng 15 % đến khoảng 20 %, bằng từ khoảng 20 % đến khoảng 25 %, bằng từ khoảng 25 % đến khoảng 30 %, bằng từ khoảng 30 % đến khoảng 35 %, bằng từ khoảng 35 % đến khoảng 40 %, bằng từ khoảng 40 % đến khoảng 45 %, hoặc bằng từ khoảng 45 % đến khoảng 50 %, so với lượng thu nạp thức ăn của đối tượng trước khi cho dùng protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm hoặc tổ hợp bất kỳ theo sáng chế được mô tả trong tài liệu này, hoặc so với đối tượng đối chứng không nhận được protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm hoặc tổ hợp bất kỳ theo sáng chế được mô tả trong tài liệu này.

Trong một số phương án, lượng thức ăn thu nạp được duy trì, ví dụ, trong khoảng 1 tuần, trong khoảng 2 tuần, trong khoảng 3 tuần, trong khoảng 1 tháng, trong khoảng 2 tháng, trong khoảng 3 tháng, trong khoảng 4 tháng, trong khoảng 5 tháng, trong khoảng 6 tháng, trong khoảng 7 tháng, trong khoảng 8 tháng, trong khoảng 9 tháng, trong khoảng 10 tháng, trong khoảng 11 tháng, trong khoảng 1 năm, trong

khoảng 1,5 năm, trong khoảng 2 năm, trong khoảng 2,5 năm, trong khoảng 3 năm, trong khoảng 3,5 năm, trong khoảng 4 năm, trong khoảng 4,5 năm, trong khoảng 5 năm, trong khoảng 6 năm, trong khoảng 7 năm, trong khoảng 8 năm, trong khoảng 9 năm, trong khoảng 10 năm, trong khoảng 15 năm, hoặc trong khoảng 20 năm.

Sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm glycated hemoglobin (A1C) ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc dược phẩm theo sáng chế. Trong một số phương án, A1C của đối tượng giảm ở mức, ví dụ, bằng từ khoảng 0,001 % đến khoảng 0,01 %, từ khoảng 0,01 % đến khoảng 0,1 %, từ khoảng 0,1 % đến khoảng 0,2 %, từ khoảng 0,2 % đến khoảng 0,3 %, từ khoảng 0,3 % đến khoảng 0,4 %, từ khoảng 0,4 % đến khoảng 0,5 %, từ khoảng 0,5 % đến khoảng 1 %, từ khoảng 1 % đến khoảng 1,5 %, từ khoảng 1,5 % đến khoảng 2 %, từ khoảng 2 % đến khoảng 2,5 %, từ khoảng 2,5 % đến khoảng 3 %, từ khoảng 3 % đến khoảng 4 %, từ khoảng 4 % đến khoảng 5 %, từ khoảng 5 % đến khoảng 6 %, từ khoảng 6 % đến khoảng 7 %, từ khoảng 7 % đến khoảng 8 %, từ khoảng 8 % đến khoảng 9 %, hoặc từ khoảng 9 % đến khoảng 10 % so với A1C của đối tượng trước khi cho dùng loại bất kỳ protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm hoặc tổ hợp theo sáng chế được mô tả trong tài liệu này, hoặc so với đối tượng đối chứng không nhận được loại bất kỳ protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm hoặc tổ hợp theo sáng chế được mô tả trong tài liệu này.

Theo những phương án khác, các phương pháp được đề xuất để giảm nồng độ glucoza trong máu ở đối tượng cần điều trị, các phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc dược phẩm theo sáng chế. Nồng độ glucoza trong máu khi đói có thể giảm xuống thấp hơn khoảng 140 đến khoảng 150 mg/dL, thấp hơn khoảng 140 đến khoảng 130 mg/dL, thấp hơn khoảng 130 đến khoảng 120 mg/dL, thấp hơn khoảng 120 đến khoảng 110 mg/dL, thấp hơn khoảng 110 đến khoảng 100 mg/dL, thấp hơn khoảng 100 đến khoảng 90 mg/dL hoặc thấp hơn khoảng 90 đến khoảng 80 mg/dL, so với nồng độ glucoza trong máu khi đói của đối tượng trước khi cho dùng loại bất kỳ protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm hoặc tổ hợp theo sáng chế được mô tả trong tài liệu này, hoặc so với đối tượng

đối chứng không nhận được loại bất kỳ protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15, chế phẩm, dạng bào chế, dược phẩm hoặc tổ hợp theo sáng chế được mô tả trong tài liệu này.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều hòa hoạt tính thụ thể GLP1 và hoạt tính thụ thể GDF15 ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc dược phẩm theo sáng chế. Trong tài liệu này, "điều hòa" có nghĩa là tăng hoặc giảm hoạt tính của thụ thể.

Trong một số phương án, một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế hoặc dạng bào chế, chế phẩm hoặc dược phẩm của nó được cho đối tượng cần điều trị sử dụng mỗi ngày một lần, hai lần một ngày, ba lần một ngày, bốn lần một ngày, năm lần một ngày, sáu lần một ngày, bảy lần một ngày hoặc tám lần một ngày. Theo các phương án khác, một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế hoặc dạng bào chế, chế phẩm hoặc dược phẩm của nó được cho đối tượng cần điều trị sử dụng hai ngày một lần, mỗi tuần một lần, mỗi tuần hai lần, mỗi tuần ba lần, mỗi tuần bốn lần, mỗi tuần năm lần, mỗi tuần sáu lần, mỗi tháng hai lần, mỗi tháng ba lần hoặc mỗi tháng bốn lần.

Một phương án khác theo sáng chế bao gồm phương pháp phòng ngừa, điều trị, trì hoãn sự khởi phát hoặc cải thiện bệnh, rối loạn hoặc hội chứng hoặc một hay nhiều triệu chứng bất kỳ của bệnh, rối loạn hoặc hội chứng này ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc dược phẩm theo sáng chế trong liệu pháp điều trị kết hợp. Trong một số phương án nhất định, liệu pháp kết hợp là dùng với thuốc điều trị thứ hai. Trong một số phương án nhất định, liệu pháp kết hợp là kết hợp với liệu pháp phẫu thuật.

Như được sử dụng trong tài liệu này, thuật ngữ "kết hợp" trong ngữ cảnh sử dụng hai hoặc nhiều liệu pháp điều trị cho đối tượng, chỉ việc sử dụng nhiều hơn một liệu pháp.

Như được sử dụng trong tài liệu này, liệu pháp điều trị kết hợp chỉ việc cho đối tượng cần điều trị sử dụng một hoặc nhiều thuốc điều trị bổ sung, hoặc một hay nhiều liệu pháp phẫu thuật, sử dụng đồng thời với lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-

GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế hoặc dạng bào chế, chế phẩm hoặc dược phẩm của nó. Theo một số phương án, một hoặc nhiều thuốc điều trị hoặc các liệu pháp phẫu thuật bổ sung có thể được dùng trong cùng ngày với lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế, còn trong các phương án khác, một hoặc nhiều thuốc điều trị hoặc các liệu pháp phẫu thuật bổ sung có thể được dùng trong cùng tuần hoặc cùng tháng với lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế.

Sáng chế cũng nhằm mục đích phòng ngừa, điều trị, trì hoãn sự khởi phát hoặc cải thiện bệnh, rối loạn, hội chứng hoặc triệu chứng bất kỳ được mô tả trong tài liệu này ở đối tượng cần điều trị bằng liệu pháp điều trị kết hợp, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc dược phẩm theo sáng chế, kết hợp với một hoặc nhiều thuốc điều trị sau đây: chất ức chế đipeptiđyl peptiđaza-4 (DPP-4) (ví dụ: sitagliptin, saxagliptin, linagliptin, alogliptin, v.v.); chất chủ vận thụ thể GLP1 (ví dụ: chất chủ vận thụ thể GLP1 tác dụng thời gian ngắn như exenatit và lixisenatide; chất chủ vận thụ thể GLP1 tác dụng tức thì như Liraglutit; chất chủ vận thụ thể GLP1 tác dụng kéo dài như exenatit giải phóng chậm, albiglutit, Dulaglutit); chất ức chế đồng vận chuyển natri- glucoza 2 (SGLT-2) (ví dụ, canaglifozin, đapaglifozin, empaglifozin, v.v.); các chất càng hóa axit mật (ví dụ, colesevelam, v.v.); chất chủ vận thụ thể đopamin (ví dụ, bromocriptin giải phóng nhanh); điguanua (ví dụ, metformin, v.v.); insulin; oxyntomodulin; sulfonylurea (ví dụ, chlorpropamide, glimepiride, glipizide, glyburide, glibenclamide, glibornuride, glisoxepide, glyclopyramide, tolazamide, tolbutamide, acetohexamide, carbutamide, v.v.); và thiazoliđinđion (ví dụ; pioglitazon, rosiglitazon, lobeglitazon, ciglitazon, darglitazon, englitazon, netoglitazon, rivoglitazon, troglitazon, v.v.). Theo một số phương án, liều lượng của (các) thuốc điều trị bổ sung giảm bớt khi cho kết hợp với protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế. Theo một số phương án, khi được dùng kết hợp với protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế, thuốc điều trị bổ sung có thể được dùng với liều thấp hơn so với khi sử dụng từng thuốc riêng biệt.

Sáng chế nhằm mục đích phòng ngừa, điều trị, trì hoãn sự khởi phát hoặc cải thiện bệnh, rối loạn, hội chứng hoặc triệu chứng bất kỳ được mô tả trong tài liệu này

ở đối tượng cần điều trị bằng liệu pháp điều trị kết hợp, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15, polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc dược phẩm theo sáng chế, kết hợp với liệu pháp phẫu thuật. Trong một số phương án nhất định, liệu pháp phẫu thuật có thể là phẫu thuật giảm cân (ví dụ, phẫu thuật nối tắt dạ dày, như phẫu thuật nối tắt dạ dày Roux-en-Y; cắt tạo dạ dày hình ống; phẫu thuật thắt dạ dày điều chỉnh; chuyển dòng mật tụy kèm chuyển dòng tá tràng; bóng đặt trong dạ dày; tạo nếp gấp dạ dày; và kết hợp bất kỳ của chúng).

Theo các phương án, trong đó một hoặc nhiều thuốc điều trị bổ sung hoặc liệu pháp phẫu thuật được sử dụng cùng ngày với lượng hữu hiệu protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế, protein dung hợp GLP1-GDF15 và/hoặc polynucleotit dung hợp GLP1-GDF15 theo sáng chế có thể được sử dụng trước, sau hoặc đồng thời với thuốc điều trị bổ sung hoặc liệu pháp phẫu thuật. Việc sử dụng thuật ngữ "kết hợp" không giới hạn trình tự sử dụng liệu pháp điều trị cho đối tượng. Ví dụ, có thể cho đối tượng sử dụng liệu pháp thứ nhất (ví dụ, chế phẩm được mô tả trong tài liệu này) trước khi (ví dụ, 5 phút, 15 phút, 30 phút, 45 phút, 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 12 giờ, 16 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần, 6 tuần, 8 tuần, hoặc 12 tuần trước), đồng thời với, hoặc sau khi (ví dụ, 5 phút, 15 phút, 30 phút, 45 phút, 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 12 giờ, 16 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần, 6 tuần, 8 tuần, hoặc 12 tuần sau) sử dụng liệu pháp thứ hai.

Các phương án

Sáng chế còn đề xuất các phương án không giới hạn sau đây.

Phương án 1 là protein dung hợp yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15)-peptit giống như glucagon 1 (GLP1), trong đó protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm peptit GLP1, peptit cầu nối thứ nhất, protein albumin huyết thanh, peptit cầu nối thứ hai và protein GDF15.

Phương án 2 là protein dung hợp GLP1-GDF15 theo phương án 1, trong đó peptit GLP1 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ:1-4.

Phương án 3 là protein dung hợp GLP1-GDF15 theo phương án 1 hoặc 2, trong đó peptit cầu nối thứ nhất bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ:5-25.

Phương án 4 là protein dung hợp GLP1-GDF15 theo phương án bất kỳ trong các phương án từ 1 đến 3, trong đó protein albumin huyết thanh bao gồm trình tự axit amin được chọn từ SỐ ID TRÌNH TỰ:26 hoặc SỐ ID TRÌNH TỰ:27.

Phương án 5 là protein dung hợp GLP1-GDF15 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 4, trong đó peptit cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có SỐ ID TRÌNH TỰ:28-30.

Phương án 6 là protein dung hợp GLP1-GDF15 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 5, trong đó protein GDF15 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ SỐ ID TRÌNH TỰ:31 hoặc SỐ ID TRÌNH TỰ:32.

Phương án 7 là protein dung hợp GLP1-GDF15, trong đó protein dung hợp GLP1-GDF15 này bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có SỐ ID TRÌNH TỰ:33-74 và 84.

Phương án 8 là axit nucleic đã phân lập mã hóa protein dung hợp GLP1-GDF15 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 7.

Phương án 9 là vectơ chứa axit nucleic đã phân lập theo phương án 8.

Phương án 10 là tế bào chủ chứa axit nucleic đã phân lập theo phương án 8 hoặc vectơ theo điểm 9.

Phương án 11 là dược phẩm chứa protein dung hợp GLP1-GDF15 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 7 và chất mang dược dụng.

Phương án 12 là phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh béo phì ở đối tượng cần điều trị, bao gồm bước cho đối tượng đó sử dụng một lượng hữu hiệu dược phẩm theo phương án 11.

Phương án 13 là phương pháp theo phương án 12, trong đó việc cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu dược phẩm khiến cân nặng của đối tượng giảm khoảng 5 % đến khoảng 10 %, khoảng 10 % đến khoảng 15 %, khoảng 15 % đến khoảng 20 % hoặc khoảng 20 % đến khoảng 25 % so với cân nặng của đối tượng trước khi sử dụng dược phẩm.

Phương án 14 là phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng cần điều trị, trong đó bệnh hoặc rối loạn này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh béo phì, tiểu đường tuýp I hoặc týp II, hội chứng chuyển hóa, kháng insulin, suy giảm dung nạp glucoza, tăng đường huyết, tăng insulin huyết, tăng triglixerit huyết, giảm glucoza huyết do tăng insulin huyết bẩm sinh (CHI), rối loạn mỡ máu, xơ vữa

động mạch, bệnh thận do tiểu đường và các yếu tố nguy cơ tim mạch khác như tăng huyết áp và yếu tố nguy cơ tim mạch liên quan đến nồng độ cholesterol và/hoặc lipit không được kiểm soát, loãng xương, viêm, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh thận và bệnh chàm, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu dược phẩm theo phương án 11.

Phương án 15 là phương pháp theo phương án 14, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là bệnh béo phì.

Phương án 16 là phương pháp theo phương án 14, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là bệnh tiểu đường tuýp I.

Phương án 17 là phương pháp theo phương án 14, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là bệnh tiểu đường tuýp II.

Phương án 18 là phương pháp theo phương án 14, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là hội chứng chuyển hóa.

Phương án 19 là phương pháp theo phương án 14, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là bệnh thận.

Phương án 20 là phương pháp theo phương án 14, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH).

Phương án 21 là phương pháp theo phương án 14, trong đó bệnh hoặc rối loạn đã nêu là bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD).

Phương án 22 là phương pháp làm giảm lượng thu nạp thức ăn ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu dược phẩm theo phương án 11.

Phương án 23 là phương pháp theo phương án 22, trong đó việc cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu dược phẩm dẫn đến giảm lượng thu nạp thức ăn khoảng 5 % đến khoảng 10 %, khoảng 10 % đến khoảng 15 %, khoảng 15 % đến khoảng 20 %, khoảng 20 % đến khoảng 25 %, khoảng 25 % đến khoảng 30 %, khoảng 30 % đến khoảng 35 %, khoảng 35 % đến khoảng 40 %, khoảng 40 % đến khoảng 45 % hoặc khoảng 45 % đến khoảng 50 % so với lượng thu nạp thức ăn của đối tượng trước khi sử dụng dược phẩm.

Phương án 24 là phương pháp điều hòa hoạt tính thụ thể GLP1 ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu dược phẩm theo phương án 11.

Phương án 25 là phương pháp điều hòa hoạt tính thụ thể GDF15 ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu dược phẩm theo phương án 11.

Phương án 26 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong các phương án từ 11 đến 25, trong đó dược phẩm được sử dụng qua đường tiêm.

Phương án 27 là phương pháp theo phương án 26, trong đó việc tiêm được thực hiện dưới da, trong cơ, trong màng bụng hoặc trong tĩnh mạch.

Phương án 28 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong các phương án từ 11 đến 27, trong đó dược phẩm được sử dụng kết hợp với thuốc điều trị thứ hai.

Phương án 29 là phương pháp theo phương án bất kỳ trong các phương án từ 11 đến 28, trong đó dược phẩm được cho đối tượng cần điều trị dùng mỗi ngày một lần, mỗi tuần một lần hoặc mỗi tháng một lần.

Phương án 30 là phương pháp theo phương án 29, trong đó dược phẩm được cho dùng một lần, hai lần, ba lần, bốn lần, năm lần hoặc sáu lần một ngày.

Phương án 31 là phương pháp theo phương án 29, trong đó dược phẩm được cho dùng một lần, hai lần, ba lần, bốn lần, năm lần hoặc sáu lần một tuần.

Phương án 32 là phương pháp theo phương án 29, trong đó dược phẩm được cho dùng một lần, hai lần, ba lần hoặc bốn lần một tháng.

Phương án 33 là bộ kit chứa protein dung hợp GLP1-GDF15 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 7, axit nucleic phân lập theo phương án 8 và/hoặc vectơ theo phương án 9.

Phương án 34 là bộ kit theo phương án 33, trong đó bộ kit này còn bao gồm dụng cụ tiêm.

Phương án 35 là phương pháp sản xuất dược phẩm bao gồm protein dung hợp GLP1-GDF15 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 7, bao gồm bước kết hợp protein dung hợp GLP1-GDF15 với chất mang dược dụng để thu được dược phẩm.

Phương án 36 là phương pháp sản xuất protein dung hợp GLP1-GDF15 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 7, bao gồm bước nuôi cấy tế bào chứa axit nucleic mã hóa protein dung hợp GLP1-GDF15 trong các điều kiện để có thể tạo ra protein dung hợp GLP1-GDF15, và bước thu hồi protein dung hợp GLP1-GDF15 từ tế bào hoặc môi trường nuôi cấy.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Sự kết hợp chất chủ vận GLP1 và GDF15

Tác dụng giảm cân tiềm tàng của chất phụ gia khi kết hợp chất chủ vận GLP1 và GDF15 đã được thử nghiệm trên chuột bị béo phì do chế độ ăn (DIO). Liraglutit, chất chủ vận GLP1, được sử dụng một mình hoặc kết hợp với phân tử HSA-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:81) trong 8 ngày. Liraglutit được sử dụng dưới da hàng ngày, còn HSA-GDF15 được cho dùng hai ngày một lần. Sự sụt cân nhiều hơn ở động vật nhận cả hai chất chủ vận so với nhận một trong hai chất chứng minh khả năng cộng tính khi kết hợp các cơ chế độc lập này (HÌNH 1).

Ví dụ 2: Thiết kế protein dung hợp GLP1-GDF15

Protein dung hợp tái tổ hợp bao gồm peptit GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1, protein albumin huyết thanh và protein GDF15 hoặc protein biến thể GDF15 được thiết kế như sau: Peptit GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 được kết nối qua peptit cầu nối thứ nhất ở đầu C của peptit GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 với đầu N của albumin huyết thanh người. Albumin huyết thanh người được kết nối ở đầu C với đầu N của protein GDF15 hoặc biến thể protein GDF15 qua peptit cầu nối thứ hai. Thiết kế nhằm mục đích để giao diện dị đime GDF15 không bị xáo trộn và cho phép tạo đisulfua giữa các mạch tự nhiên, tạo đồng đime xấp xỉ 170 KDa. Toàn bộ phân tử được thiết kế để tạo tái tổ hợp, chỉ cần một gen (HÌNH 3).

Peptit GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 bao gồm peptit GLP1 (7-36) người có đột biến hoặc peptit Exendin 4 (9-39), peptit nọc độc từ thằn lằn Gila khổng lồ kháng lại thụ thể GLP1 người. SỐ ID TRÌNH TỰ:1 chứa (A8S, A30E) các đột biến (việc đánh số vị trí đột biến đề cập đến đột biến peptit GLP1 trong Bảng 1, không phải từ đầu protein dung hợp) và SỐ ID TRÌNH TỰ:2 chứa (A8G, G22E, R36G) các đột biến từ peptit GLP1 người (UniProtKB - P01275 98-127). SỐ ID TRÌNH TỰ:3 chứa peptit Exendin 4 (UniProtKB - P26349 48-86).

Albumin huyết thanh người tự nhiên (UniProtKB - P02768 25-609) chứa 35 đơn phân xystein (Cys, C) tạo thành 17 liên kết đisulfua nội phân tử, để lại Cys-34 là xystein tự do duy nhất. Cys-34 tự do này đã cho thấy là nó hoạt động như chất chống muội có gốc tự do, bằng cách bẫy nhiều dạng oxy phản ứng (ROS) và các dạng nitơ phản ứng (RNS) (Taverna và cộng sự, Ann Intensive Care, 3:4 (2013)). Do đó, Cys tự

do này được tạo đột biến thành Ser để tạo SỐ ID TRÌNH TỰ:26 nhằm giảm phản ứng hóa học và nguy cơ không đồng nhất do quá trình oxy hóa.

Đầu N của GDF15 trưởng thành (UniProtKB - Q99988 197-308) chứa vị trí chịu trách nhiệm phân giải protein (R198) và vị trí chịu trách nhiệm khử amit (N199). Do đó, protein dung hợp chứa GDF15(201-308) (SỐ ID TRÌNH TỰ:31) có các vị trí chịu trách nhiệm đó đã được xóa.

Ví dụ 3: Phương pháp biểu hiện và tinh chế

Protein dung hợp GLP1-GDF15, protein albumin cầu nối-huyết thanh GLP1-thứ nhất (ví dụ: HSA, GSA), albumin huyết thanh (ví dụ: HSA, GSA)-protein cầu nối-GDF15 thứ hai và/hoặc protein GDF15 được sử dụng trong các ví dụ trên được biểu hiện trong HEK Expi293F™ (ThermoFisher Scientific, Cat # A14527) hoặc ExpiCHO-S™ (ThermoFisher Scientific, Cat # A29127; Waltham, MA). Để biểu hiện trong HEK Expi293F™, plasmit mã hóa protein dung hợp GLP1-GDF15 được chuyển nhiễm vào tế bào bằng cách chuyển nhiễm tạm thời theo đề xuất của nhà sản xuất. Tóm lại, các tế bào Expi293F được duy trì ở trạng thái huyền phù trong môi trường biểu hiện Expi293™ (ThermoFisher Scientific) trong tủ ủ lắc ở 37 °C, 8 % CO_2 và 125 RPM. Các tế bào được tách chuyển sao cho vào ngày chuyển nhiễm, có thể đạt được độ pha loãng xuống mức 2,5 x 10^6 tế bào/ml, duy trì khả năng tồn tại của tế bào ở mức 95 % hoặc cao hơn. Việc chuyển nhiễm tạm thời được thực hiện bằng cách sử dụng bộ kit chuyển nhiễm ExpiFectamine™ 293 (ThermoFisher Scientific). Đối với mỗi ml tế bào pha loãng được chuyển nhiễm, một microgam ADN plasmit được pha loãng trong môi trường tạo phức OptiMEM™ SFM. Thuốc thử ExpiFectamine™ 293 được sử dụng theo tỷ lệ 1:2,6 (thể tích/thể tích, ADN:thuốc thử) và cũng được pha loãng trong OptiMEM™, và được cho ủ trong 5 phút ở nhiệt độ phòng. ADN pha loãng và thuốc thử chuyển nhiễm được kết hợp trong hai mươi phút, cho phép hình thành phức hợp ADN/lipit và sau đó được thêm vào các tế bào. Sau khi ủ qua đêm, vật liệu Expi293™ và chất tăng cường ExpiFectamine™ 293 được thêm vào các tế bào. Các tế bào được nuôi cấy trong tình trạng lắc ở 37 °C trong 4 ngày trước khi thu hoạch lớp bề mặt dung dịch nuôi cấy.

Tế bào ExpiCHO-S™ được duy trì ở trạng thái huyền phù trong môi trường biểu hiện ExpiCHO™ (ThermoFisher Scientific) trong tủ ủ lắc ở 37 °C, 8 % CO_2 and 125 RPM. Các tế bào được tách chuyển sao cho vào ngày chuyển nhiễm, có thể đạt được độ

pha loãng xuống mức 6,0 x 10^6 tế bào/ml, duy trì khả năng tồn tại của tế bào ở mức 98 % hoặc cao hơn. Việc chuyển nhiễm tạm thời được thực hiện bằng bộ kit chuyển nhiễm ExpiFectamine™ CHO (ThermoFisher Scientific). Đối với mỗi ml tế bào pha loãng được chuyển nhiễm, một microgam ADN plasmit được pha loãng trong môi trường tạo phức OptiPRO™ SFM. Thuốc thử ExpiFectamine™ CHO được sử dụng theo tỷ lệ 1:3 (thể tích/thể tích, ADN:thuốc thử) và cũng được pha loãng trong OptiPRO™. ADN pha loãng và thuốc thử chuyển nhiễm được kết hợp trong một phút, cho phép hình thành phức hợp ADN/lipit và sau đó được thêm vào các tế bào. Sau khi ủ qua đêm, vật liệu ExpiCHO™ và chất tăng cường ExpiFectamine™ CHO đã được thêm vào các tế bào. Tế bào được nuôi cấy trong tình trạng lắc ở 32 °C trong năm ngày trước khi thu hoạch lớp bề mặt dung dịch nuôi cấy.

Protein dung hợp GLP1-GDF15 được tinh chế từ lớp bề mặt dung dịch nuôi cấy đã thu hoạch bằng bắt ái lực một bước hoặc quy trình hai bước bằng cách sử dụng bắt ái lực, sau đó là bước tinh chế sắc ký loại trừ kích cỡ điều chế (SEC). Các lớp tế bào nổi từ tế bào ExpiCHO™ được chuyển nhiễm tạm thời được tải lên cột HSA CaptureSelect (Ma trận ái lực albumin người CaptureSelect từ ThermoFisher Scientific) được cân bằng trước (dPBS, pH 7,2) với năng suất xấp xỉ 10 mg protein cho mỗi ml nhựa. Sau khi tải, các protein và tạp chất không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa cột với tối đa 12 thể tích cột (CV) của dPBS pH 7,2, tiếp theo là 3 CV của NaCl 1 M trong 50 mM Natri phosphat, pH 7,4. Protein dung hợp GLP1-GDF15 liên kết với cột được rửa giải bằng tối đa 10 CV của Natri axetat 0,1 M, pH 3,5, vào ống cất chứa 10 phần trăm (theo thể tích) Tris 1 M (không được chuẩn độ). Đoạn đỉnh được tập hợp và lọc qua màng 0,2 µm, sau đó chất đệm được chuyển đổi thành dPBS pH 7,2 hoặc tiếp tục đến bước SEC ở 4 °C.

Đối với bước SEC, protein từ bước bắt được cô đặc đến thể tích phù hợp trước khi nạp vào cột 200 superdex 26/60 (GE Healthcare; Little Chalfont, Vương quốc Anh). Đoạn protein được rửa giải từ cột SEC có độ tinh khiết cao (được xác định bằng SDS-PAGE) được tập hợp. Nồng độ của protein (từ một trong hai phương pháp) được xác định bằng độ hấp thụ ở 280 nm trên quang phổ kế BioTek Synergy HTTM. Chất lượng của protein tinh chế được đánh giá bởi SDS-PAGE và HPLC loại kích cỡ phân tích (SE-HPLC, hệ thống Dionex HPLC). Các mức nội độc tố được đo bằng xét nghiệm LAL (Pyrotell®-T, Associates of Cape Cod; East Falmouth, MA).

Ví dụ 4: Gắn kết đích kép và tác dụng cộng gộp khi truyền cả chất chủ vận GLP1 và GDF15 trên một phân tử

Khả năng đạt hiệu ứng cộng gộp thông qua việc truyền chất chủ vận GLP1 và GDF15 trên một phân tử đã được thử nghiệm bằng cách đánh giá sự sụt cân ở chuột DIO trong tám ngày điều trị, với sự dung hợp của chất chủ vận bằng albumin huyết thanh khỉ đột (GSA). GSA được sử dụng làm chất thay thế cho HSA trong các phân tử công cụ này. Chuột được cho dùng dưới da 8 nmol/kg GLP1-GSA-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:72), GLP1-GSA-GDF15(I89R) (SỐ ID TRÌNH TỰ:73, đột biến I89R loại bỏ hoạt tính GDF15), GLP1(9-36)-GSA-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:74 hoặc GSA-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:75), cả hai đều được thiết kế để biểu thị GLP1 phân giải. Hai nhóm động vật bổ sung được dùng làm đối chứng và đối chiếu, một chất mang tiếp nhận đơn lẻ hoặc một chất mang khác được cho dùng Dulaglutit chủ vận GLP1. Chuột được điều trị bằng GLP1-GSA-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:72) bị sụt cân nhiều hơn những con được điều trị bằng GLP1(9-36)-GSA-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:74), GLP1-GSA-GDF15(I89R) (SỐ ID TRÌNH TỰ:73) và GSA-GDF15 (SỐ ID TRÌNH TỰ:75), miễn là có chứng minh khái niệm rằng cả GLP1R và GFRAL đều có thể được chống chịu bằng một phân tử mang đến hiệu quả cộng tính (HÌNH 2).

Ví dụ 5: Tác dụng của peptit GLP1 hoặc các biến thể peptit GLP1 và peptit cầu nối thứ nhất đến độ hiệu nghiệm của GLP1R người *trong ống nghiệm*, độ ổn định trong huyết tương chuột *trong cơ thể sống* và trong huyết tương người *ngoài cơ thể sống*

Các biến thể peptit GLP1 hoặc peptit GLP1 khác nhau và các peptit cầu nối thứ nhất khác nhau có những tác dụng khác nhau đến độ hiệu nghiệm của thụ thể hGLP1 *trong ống nghiệm* trong xét nghiệm đo nồng độ monophosphat ađenosin vòng (cAMP) trong tế bào HEK biểu hiện quá mức hGLP1. Các dung hợp được sàng lọc độ hiệu nghiệm của GLP1R *trong ống nghiệm* trong xét nghiệm dựa trên tế bào đo sự sản xuất intracellular cAMP bằng phương pháp xét nghiệm miễn dịch cAMP cạnh tranh Lance (Perkin Elmer, Waltham, MA) theo hướng dẫn của bộ kit. Tế bào HEK293 dòng vô tính biểu hiện ổn định GLP1R chuột hoặc người đã được sử dụng trong các xét nghiệm. Dữ liệu thu được được sử dụng để tính giá trị EC_{50} của hợp chất bằng phần mềm thống kê Prism (Phần mềm GraphPad, San Diego, CA). Nhìn chung, biến thể GLP1 (SỐ ID TRÌNH TỰ:1) kém hiệu nghiệm hơn hai biến thể GLP1 khác (SỐ ID TRÌNH TỰ:2 và SỐ ID TRÌNH TỰ:3) trong xét nghiệm hGLP1R *trong ống nghiệm*.

Độ ổn định trong huyết tương người *bên ngoài cơ thể sống* đã được đánh giá. Tóm lại, huyết tương người mới, không được làm đông được tạo từ máu chống đông bằng heparin bằng cách ly tâm. Protein dung hợp được ủ trong chất nền này ở 37 °C và được trộn nhẹ trong 0, 4, 24, 48, 72 và 96 giờ. Độ ổn định của vùng GLP1 ở phân tử dung hợp theo thời gian trong huyết tương người được theo dõi bằng phân tích LC-MS/MS -thủy phân ái lực miễn dịch bắt trypsin. Các peptit trypsin được chọn, lần lượt là HSE (HSEGTFTSDVSSYLEGQAAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:76), HGE-1 (HGEGTFTSDVSSYLEEQAAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:77) và HGE-2 (HGEGTFTSDLSK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:78), được đặt tại đầu N của tương ứng peptit GLP1 hoặc peptit biến thể GLP1 (SỐ ID TRÌNH TỰ:1, 2 và 3). Các peptit trypsin đã chọn này được theo dõi bằng LC-MS/MS sau khi bắt giữ ái lực miễn dịch kháng GDF15 và thủy phân trypsin, được dùng làm phép đo nồng độ thay thế của phân tử dung hợp với GLP1 nguyên vẹn chứa đầu N. Với phương pháp này, tất cả các phân tử được thử nghiệm đã chứng minh sự ổn định hợp lý của GLP1 theo thời gian trong huyết tương người.

Độ ổn định *trong cơ thể sống* ở chuột đã được đánh giá. Protein dung hợp được dùng dưới da cho chuột đực C57Bl/6 với liều 2 mg/kg trong PBS, pH 7. Mẫu máu được thu thập vào trong ống lấy máu K3E Sarstedt với chất ức chế proteaza ở 0, 4, 24 và 48 giờ sau khi dùng thuốc. Huyết tương được điều chế bằng cách ly tâm. Độ ổn định của vùng GLP1 ở phân tử dung hợp theo thời gian *trong cơ thể sống* ở chuột được theo dõi bằng phân tích LC-MS/MS-thủy phân ái lực miễn dịch bắt trypsin. Các peptit trypsin được chọn, lần lượt là HSE (HSEGTFTSDVSSYLEGQAAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:76), HGE-1 (HGEGTFTSDVSSYLEEQAAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:77) và HGE-2 (HGEGTFTSDLSK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:78), được đặt tại đầu N của SỐ ID TRÌNH TỰ:1, 2 và 3 chứa protein dung hợp tương ứng. Các peptit trypsin đã chọn này được theo dõi bằng LC-MS/MS sau khi bắt giữ ái lực miễn dịch kháng GDF15 và thủy phân trypsin, được dùng làm phép đo nồng độ thay thế của protein dung hợp với GLP1 nguyên vẹn chứa đầu N. Với phương pháp này, tất cả các phân tử được thử nghiệm đã chứng minh độ ổn định hợp lý của GLP1 theo thời gian *trong cơ thể sống* ở chuột.

Bảng 7 cung cấp kết quả về độ hiệu nghiệm của thụ thể GLP1 *trong ống nghiệm* đo nồng độ cAMP của tế bào biểu hiện quá mức GLP1R, độ ổn định trong huyết tương người *ngoài cơ thể sống* và độ ổn định trong huyết tương chuột *trong cơ thể sống*, cả hai

đều được đánh giá bằng phương pháp khối phổ đối với protein dung hợp GLP1-GDF15 được biểu thị.

Bảng 7: Độ hiệu nghiệm của hGLP1R *trong ống nghiệm*, độ ổn định của protein dung hợp GLP1-GDF15 trong huyết tương chuột *trong cơ thể sống* và trong huyết tương người *ngoài cơ thể sống*

Phân tử			Độ hiệu nghiệm của hGLP1R *trong ống nghiệm*		Độ ổn định trong huyết tương người *ngoài cơ thể sống* bằng MS (% GLP1 nguyên vẹn so với t = 0)					Độ ổn định trong huyết tương chuột *trong cơ thể sống* bằng MS (% GLP1 nguyên vẹn so với HSA trên cùng một phân tử)		
ID trình tự	GLP1 (SỐ ID TRÌNH TỰ)	Peptit cầu nối thứ nhất (SỐ ID TRÌNH TỰ)	(nM)	+/- lỗi	4 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	4 giờ	24 giờ	48 giờ
68	3	1-7 (11)	0,09	0,04	90,8	94	89,5	74,4	70,1	93,4	57,6	31,5
60	3	1-6 (10)	0,09	0,03	Không thử nghiệm					Không thử nghiệm		
59	3	1-9 (13)	0,1	0,05								
64	3	1-19 (23)	0,12	0,03	87,4	80	75,7	62,2	56,9	80,3	51,7	32,9
67	3	1-8 (12)	0,13	0,02	86,5	89,8	76	68,2	64,7	88,8	55	34,1
70	2	1-7 (11)	0,26	0,1	122,7	125,8	122,1	102,9	99,5	93,1	71,2	44,8
62	1	1-9 (13)	0,35	0,1						Không thử nghiệm		
69	2	1-8 (12)	0,38	0,03	102,3	100,1	102,7	84,7	91,3	81,5	69,6	64,9
63	2	1-19 (23)	0,39	0,15	92,5	88,7	82,2	77,8	77,3	109	95	74,6
61	1	1-6 (10)	0,39	0,09	Không thử nghiệm					Không thử nghiệm		
66	1	1-7 (11)	0,6	0,14	107,5	99	91,2	80,5	70,7	112	55,9	37,3
71	1	1-19 (23)	1,5	0,13	100,2	93,6	84,9	62,6	60,6	87	52	30
65	1	1-8 (12)	2,98	0,74	100,7	84,9	84,8	69,4	65,4	102	59,3	45,8

Ví dụ 6: Loại bỏ xylosyl hóa liên kết với O bằng cách loại bỏ đơn phân serin trong peptit cầu nối thứ nhất và thứ hai

Phân tử chứa cầu nối glyxin-serin được thử nghiệm mức độ xyloza liên kết với O do xyloza glycan được báo cáo là gắn vào cầu nối glyxin-serin (Spahr và cộng sự, mAbs 6 (4): 904-914). Tóm lại, các mẫu được điều chế bằng cách pha loãng vào Guaniđin-HCl đệm ở độ pH 8,0 để biến tính, sau đó thêm DTT để khử và ủ trong 1 giờ ở 37 °C. Sau khi khử, các mẫu được alkyl hóa bằng cách sử dụng iođoaxetamit mới được điều chế trong 60 phút ở nhiệt độ phòng trong bóng tối. Sau đó, DTT được thêm

vào mẫu để tạo chelat iođoaxetamit không phản ứng. Tiếp theo, mẫu được khử muối bằng cách sử dụng cột khử muối Zeba Spin theo quy trình của nhà sản xuất ở 50 mM Tris, 1 mM $CaCl_2$, pH 8,0 và được thủy phân bằng trypsin (Promega) trong 4 giờ ở 37 °C. Sau khi thủy phân, TFA được thêm vào từng mẫu để dập tắt phản ứng thủy phân. Mẫu đã thủy phân được giữ ở 4 °C và được phun vào LC/MS trong vòng 24 giờ.

Mẫu đã thủy phân được tiêm vào Cột phân giải nhanh microbore ánh xạ của Agilent AdvanceBio bằng cách sử dụng UHPLC Agilent Infinity 1290 (Agilent Technologies) với tốc độ dòng 0,1 mL/phút. Nhiệt độ cột được duy trì ở 65 °C. Dung môi HPLC cấp khối phổ (0,1 % axit formic và B: 100 % ACN trong 0,1 % axit formic) được mua từ VWR. Peptit phân giải protein được rửa giải khỏi cột bằng cách sử dụng gradient 50 phút từ 2 đến 40 % ACN trong 0,1 % FA. Dòng chảy ra của cột được đưa vào quang phổ kế Thermo Orbitrap Q-Exactive Mass thông qua một đầu dò ion hóa tia điện cực được gia nhiệt (HESI) sử dụng điện áp phun 3,5 kV, khí vỏ là 20 (đơn vị nhiệm ý), khí bổ trợ 7, ống chuyển ion ở 299 °C và thiết bị hóa hơi ở 100 °C.

Một thử nghiệm phụ thuộc vào dữ liệu hàng thứ 2 từ trên xuống đã được thực hiện với bộ quét tiền thân được đặt thành phát hiện Orbitrap, độ phân giải 70.000, phạm vi khối lượng 150-2000 m/z, AGC Target 1,0e6, thời gian tiêm tối đa 50 ms, 1 microcan, cực dương. Tiêu chí quyết định tiền chất là các peptit lựa chọn tiền chất đơn đồng vị, trạng thái tích điện: 2-7, loại trừ động: 6,0 giây và ngưỡng cường độ tiền thân là 5e4. Peptit tiền thân được phân lập bởi tứ cực với cửa sổ phân ly 1,6 m/z và được gửi đến buồng va chạm. Năng lượng va chạm bằng 28 dẫn đến sự phân ly lực va chạm năng lượng cao (HCD) của peptit. Các mảnh này sau đó được chuyển đến quỹ đạo để đo lường khối lượng. Thiết lập quỹ đạo là độ phân giải 17.500 resolution, phạm vi 200-2000 m/z, mục tiêu AGC 5e5, thời gian tiêm tối đa 100 ms, 1 microscan và phổ được yêu cầu ở chế độ centroid.

Dữ liệu ánh xạ peptit được xử lý bằng cách sử dụng thuật toán tìm kiếm Byonic (Protein Metrics Inc). Thư viện tùy chỉnh của glycosaminoglycan xyloza lõi và khối lượng đơn đồng vị của chúng được thêm vào các thông số tìm kiếm như một điều hòa cụ thể của Ser. Kết quả tìm kiếm Byonic được nhập vào Byologic (Protein Metrics Inc) để định lượng dựa trên vùng sắc ký ion (XIC) được chiết xuất của các loài peptit đã điều hòa và chưa biến đổi.

Protein dung hợp GLP1-GDF15 chứa peptit cầu nối G_4S thứ nhất và thứ hai đã thể hiện nhiều mức độ khác nhau của xylosyl hóa liên kết với O trên đơn phân serin của peptit cầu nối thứ nhất và thứ hai. Bảng 8 minh họa kết quả của ba phân tử như vậy được biểu hiện tạm thời từ tế bào ExpiCHO. Mức độ xyloza phụ thuộc vào ngữ cảnh protein và dao động từ 'không được phát hiện' đến 1 % trong peptit cầu nối thứ nhất, kết nối peptit GLP1 hoặc các biến thể peptit GLP1 với protein HSA và từ 11,61 % đến 56,2 % trong peptit cầu nối thứ hai, kết nối protein HSA với protein GDF15 hoặc biến thể protein GDF15. Để tránh nguy cơ xylosyl hóa liên kết với O tiềm năng trên peptit cầu nối, protein dung hợp GLP1-GDF15 không chứa đơn phân serin trong peptit cầu nối thứ nhất và/hoặc thứ hai đã được thiết kế và tạo ra. Các protein dung hợp GLP1-GDF15 này chứa cầu nối bao gồm các đoạn lặp lại G_4A hoặc đoạn lặp lại poly-glyxin.

Bảng 8: Mức độ xyloza được phát hiện trên đơn phân serin trong peptit cầu nối thứ nhất hoặc thứ hai của protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm peptit cầu nối G_4S.

ID trình tự	Mô-tip cầu nối		Tổng % độ nhiều tương đối của Xyl theo ánh xạ peptit
64	Peptit cầu nối thứ nhất (1-9) kết nối GLP1 với HSA	SỐ ID TRÌNH TỰ:13 AS-8x(G_4S)	Không được phát hiện
	Peptit cầu nối thứ hai (2-3) kết nối HSA với GDF15	SỐ ID TRÌNH TỰ:30 GS-8x(G_4S)	11,61
67	Peptit cầu nối thứ nhất (1-8) kết nối GLP1 với HSA	SỐ ID TRÌNH TỰ:12 AS-2x(G_4S)	1,0
	Peptit cầu nối thứ hai (2-3) kết nối HSA với GDF15	SỐ ID TRÌNH TỰ:30 GS-8x(G_4S)	56,2
63	Peptit cầu nối thứ nhất (1-19) kết nối GLP1 với HSA	SỐ ID TRÌNH TỰ:23 3x(G_4S)	0,5
	Peptit cầu nối thứ hai (2-3) kết nối HSA với GDF15	SỐ ID TRÌNH TỰ:30 GS-8x(G_4S)	23,1

Ví dụ 7: Hiệu nghiệm *trong ống nghiệm* trên GLP1R và GDF15R

Hoạt tính *trong ống nghiệm* của protein dung hợp GLP1-GDF15 được thử nghiệm cho cả hiệu nghiệm GLP1R và GDF15R trong xét nghiệm dựa trên tế bào. Hoạt tính GDF15R (GFRAL) được xác định bằng cách đo mức độ phospho-AKT (Ser473) trong tế bào u nguyên bào thần kinh người SK-N-AS được chuyển nhiễm ổn định để biểu hiện quá mức GFRAL ở người hoặc khỉ đuôi dài. Sự phosphoryl hóa của

AKT sau khi điều trị tế bào biểu hiện GFRAL với các nồng độ phân tử dung hợp khác nhau được đo bằng cách sử dụng kit Xét nghiệm Phospho-AKT (Ser473) (Cisbio, Beford, MA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Dữ liệu thu được được sử dụng để tính giá trị hợp chất EC_{50} (GraphPad Software San Diego). Các protein dung hợp GLP1-GDF15 được thử nghiệm trong Bảng 9 có tính hiệu nghiệm GDF15R giống nhau, với EC_{50} trong phạm vi 4,6-6,9 nM.

Tính hiệu nghiệm GLP1R của dung hợp được xác định bằng cách đo mức độ cAMP trong tế bào HEK293 vô tính được chuyển nhiễm ổn định để biểu hiện quá mức GLP1R ở người, chuột hoặc khỉ đuôi dài. Sản xuất cAMP nội bào sau khi điều trị tế bào với các nồng độ phân tử dung hợp khác nhau được đo bằng cách sử dụng xét nghiệm miễn dịch cAMP cạnh tranh Lance (Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts) theo hướng dẫn của bộ kit. Dữ liệu thu được được sử dụng để tính giá trị hợp chất EC_{50} (GraphPad Software San Diego).

Khi đơn phân serin trong peptit cầu nối thứ nhất, nối peptit GLP1 hoặc biến thể peptit GLP1 với protein HSA, được thay thế bằng alanin hoặc bị loại bỏ (chuyển từ G_4S sang G_4A hoặc cầu nối poly-G có chiều dài tương tự), hoạt tính GLP1 không bị ảnh hưởng khi được thử nghiệm trong xét nghiệm GLP1R trên người hoặc chuột. Ngoài ra, việc thay đổi peptit cầu nối thứ hai, kết nối protein HSA với protein GDF15 hoặc biến thể protein GDF15, từ GS-8x(G_4S) sang GA-8x(G_4A) hoặc 10x (AP) không ảnh hưởng đến tính hiệu nghiệm của GLP1R. Ngoài ra, protein dung hợp với số lần lặp lại ngày càng tăng trong cầu nối thứ nhất (5X(G_4A), 8X(G_4A), 5X(AP), 10X(AP), 20X(AP), 25X(AP) đã được tạo ra và thử nghiệm trong xét nghiệm GLP1R trên người. Kết quả chứng minh rằng các protein dung hợp này đã kích hoạt tín hiệu GLP1R với tính hiệu nghiệm thay đổi.

Bảng 9: Tính hiệu nghiệm *trong ống nghiệm của* protein dung hợp GLP1-GDF15 trên GLP1R và GDF15R

	Cảm ứng cAMP								
	hGLP1R			mGLP1R			cGLP1R		
SỐ ID TRÌNH TỰ:	EC50 (nM)	STD	n	EC50 (nM)	STD	n	EC50 (nM)	STD	n
45	0,070	0,012	2	0,023	0,003	2	0,155	0,125	4
47	0,081	0,038	2	0,029	0,007	2	0,156	0,074	4

48	0,092	0,040	2	0,037	0,006	2	0,163	0,038	4
49	0,127	0,058	2	0,040	0,001	2	0,170	0,031	4
50	0,095	0,050	2	0,029	0,004	2	0,154	0,029	4
33	0,120	0,051	2	0,034	0,000	2	0,190	0,140	4
46	0,065	0,008	2	0,030	0,001	2	0,117	0,003	2
44	0,076	0,037	2	0,032	0,004	2	0,109	0,039	2
GLP1	0,011	0,004	25	0,012	0,004	21	0,013	0,003	8
Dulaglutit	0,038	0,010	27	0,020	0,004	23	0,045	0,014	8
Liraglutit	0,057	0,025	18	0,052	0,022	14	0,079	0,022	2
Albiglutit	0,981	0,438	23	1,486	0,624	19	1,759	0,735	6

	Phốt pho-AKT (Ser473)					
	hGDF15R			cGDF15R		
SỐ ID TRÌNH TỰ:	EC50 (nM)	95 % CI	n	EC50 (nM)	95 % CI	n
45	4,561	3,975-5,258	1	1,031	0,6679-1,4	1
47	5,899	5,146-6,813	1	0,937	0,7413-1,137	1
48	6,283	5,479-7,281	1	1,585	1,374-1,819	1
49	4,825	4,11-5,726	1	1,157	0,7357-1,62	1
50	5,983	5,333-6,731	1	1,225	0,9865-1,473	1
33	5,251	4,523-6,113	1	1,004	0,7745-1,243	1
46	6,917	6,3-7,623	1	1,521	1,267-1,805	1
44	4,945	4,393-5,572	1	1,350	1,102-1,614	1

Ví dụ 8: Ảnh hưởng của peptit cầu nối thứ nhất và thứ hai trên độ tinh khiết và ổn định của protein

Sắc ký lỏng hiệu năng cao loại kích cỡ (SE-HPLC) được sử dụng để kiểm tra độ tinh khiết và độ ổn định của các phân tử bằng cách định lượng phần trăm loài chính cũng như cả loài có khối lượng phân tử cao (HMW) đại diện cho tổ hợp và loài có khối lượng phân tử thấp (LMW) đại diện cho các mảnh. Tóm lại, để xác định độ tinh khiết protein, 20 µg được tiêm lên cột Tosoh TSKgel BioAssist G3SWXL (Cat#20026) với pha động 1x DPBS, pH7,2 (Gibco Cat#14190-136). Loại protein được rửa giải ở tốc độ dòng 1 mL/phút ở nhiệt độ phòng và các giá trị độ hấp thụ UV-280 nm được theo

dõi bằng cách sử dụng hệ thống HPLC Dionex Ultimate3000 được trang bị máy dò bước sóng thay đổi. Để xác định độ ổn định protein, 100 µg được tiêm lên cột Tosoh TSKgel BioAssist G3SWXL (Cat#20026) với pha động 0,2 M natri phosphat pH 7,0. Loại protein được rửa giải ở tốc độ dòng 0,7 mL/phút ở nhiệt độ phòng và các giá trị độ hấp thụ UV-280 nm được theo dõi bằng cách sử dụng hệ thống HPLC Dionex Ultimate3000 được trang bị máy dò bước sóng thay đổi. Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm Chromeleon.

Khi protein dung hợp GLP1-GDF15 được tạo ra từ biểu hiện tạm thời trong tế bào ExpiCHO và được tinh chế bằng cách bắt giữ ái lực theo các phương pháp được mô tả trong Ví dụ 2, protein dung hợp GLP1-GDF15 với peptit cầu nối thứ hai 10x(AP) (SỐ ID TRÌNH TỰ:28) (kết nối protein HSA với protein GDF15 hoặc biến thể protein GDF15) luôn dẫn đến phần trăm loài có khối lượng phân tử thấp (LMW) thấp hơn so với phân tử chứa peptit cầu nối thứ hai GA-8x(G_4A) (SỐ ID TRÌNH TỰ:29) (Bảng 10). Loài LMW đã được loại bỏ bằng các bước đánh bóng trong quá trình tinh chế và kết quả là protein dung hợp GLP1-GDF15 cuối cùng tinh khiết hơn 97 % theo SE-HPLC.

Các protein dung hợp GLP1-GDF15 này đã được kiểm tra độ ổn định trong các điều kiện bắt buộc đã xác định. Để buộc ứng kích oxy hóa do hóa chất, các mẫu được tiếp xúc với nồng độ cuối cùng hyđro peroxit 0,1 % và ủ trong bóng tối 6 giờ trước khi thêm catalaza để dừng phản ứng. Trong điều kiện oxy hóa do kim loại, nồng độ 30 µM cuối cùng của sắt màu được thêm vào các mẫu. Sau khi ủ hai tuần trong bóng tối, EDTA được thêm vào để dừng phản ứng. Để kiểm tra độ ổn định ở pH thấp, các mẫu được thẩm tách vào dung dịch đệm axetat 50 mM pH 3,5, giữ trong 6 giờ và thẩm tách trở lại 0,1 M natri phosphat pH 7,4. Để thử nghiệm độ ổn định của mẫu trong điều kiện ứng kích nhiệt, mẫu được cô đặc đến nồng độ khoảng 10 mg/ml bằng lọc siêu ly tâm với giá trị tới hạn khối lượng phân tử 30 KDal và được giữ trong 40 °C trong hai tuần trong PBS. Các mẫu này trải qua quá trình oxy hóa do hóa chất hoặc kim loại nêu trên, cũng như điều kiện pH thấp hoặc điều kiện ứng kích nhiệt được phân tích trong sắc ký loại kích cỡ phân tích (cột TOSOH) với tốc độ dòng 1 ml/phút trong 20 phút thực hiện ở nhiệt độ phòng. Tín hiệu được thu thấp cho UV-280 nm (hệ thống LC Agilent 1100) và dữ liệu được hoàn thành bằng Chemstation (Agilent).

Bảng 11 minh họa ảnh hưởng của cầu nối thứ hai lên độ ổn định của protein dung hợp GLP1-GDF15 dưới điều kiện ứng kích nhiệt (40 °C trong 2 tuần). Protein dung hợp GLP1-GDF15 chứa peptit cầu nối thứ hai10x(AP) (SỐ ID TRÌNH TỰ:28) dẫn đến mức độ loài LMW được hình thành thấp hơn so với protein dung hợp GLP1-GDF15 chứa peptit cầu nối thứ hai GA-8x(G_4A) (SỐ ID TRÌNH TỰ:29), chỉ báo rằng peptit cầu nối thứ hai AP ổn định về mặt nhiệt hơn so với peptit cầu nói thứ hai G_4A. Trong điều kiện ứng kích được thử nghiệm khác (độ pH thấp, oxy hóa do hóa chất hoặc kim loại), mức độ loài LMW của mẫu giữ ở mức nhỏ nhất, tương tự như các mẫu không ứng kích.

Phân tích nhiệt quét vi sai (Differential Scanning Calorimetry, DSC) được thực hiện để xác định độ ổn định nhiệt của protein GLP1-HSA-GDF15. Mẫu được đánh giá ở khoảng 0,5-1 mg/ml trong dung dịch PBS pH7,4 bằng cách sử dụng thiết bị MicroCal VP-Capillary DSC. Quét nhiệt trải dài từ 25 °C đến 95 °C với tốc độ tuyến tính 1 °C/phút. Thời gian quét sơ bộ là 15 phút và thời gian lọc là 10 giây được sử dụng cho mỗi lần thực hiện. Dữ liệu được xử lý bằng chức năng làm khớp khác 2 trạng thái trong gói phần mềm Origin7. Kết quả DSC được chứng minh là protein dung hợp GLP1-GDF15 có nhiệt độ nóng chảy (T_m) trong phạm vi 63-72 °C (Bảng 12), giống như protein dung hợp HSA-GDF15 không chứa peptit GLP1 hoặc biến thể peptit GLP1.

Bảng 10: Protein dung hợp GLP1-GDF15 với peptit cầu nối thứ nhất và thứ hai khác nhau minh họa các mức độ loài có khối lượng phân tử thấp khác nhau bằng SE-HPLC sau khi tinh chế ái lực.

SỐ ID TRÌNH TỰ:	Peptit cầu nối thứ nhất (SỐ ID TRÌNH TỰ)	Peptit cầu nối thứ hai (SỐ ID TRÌNH TỰ)	SE-HPLC sau khi tinh chế ái lực		
			% HMW	% chính	% LMW
45	10x(AP) (6)	10x(AP) (28)	0-1,32	98,68-100	0
33	5x(G_4A) (18)	10x(AP) (28)	0	100	0
44	5x(AP) (5)	10x(AP) (28)	0	100	0
47	25x(G) (22)	GA-8x(G_4A) (29)	2,3	86,64	11,06

48	20x(G) (21)	GA-8x(G_4A) (29)	5,56	83,77	10,67
49	4x(G_4A) (17)	GA-8x(G_4A) (29)	2,93	94,64	2,43
46	5x(AP) (5)	GA-8x(G_4A) (29)	0	92,33	7,67
50	5x(G_4A) (18)	GA-8x(G_4A) (29)	0,77-3	89,71-91,00	7,29-8,22

Bảng 11: Protein dung hợp GLP1-GDF15 với peptit cầu nối thứ nhất và thứ hai khác nhau minh họa các mức độ loài có khối lượng phân tử thấp khác nhau trong điều kiện ứng kích nhiệt (40 °C trong 2 tuần).

SỐ ID TRÌNH TỰ:	Peptit GLP1 hoặc biến thể peptit GLP1	Peptit cầu nối thứ nhất (SỐ ID TRÌNH TỰ:)	Peptit cầu nối thứ hai (SỐ ID TRÌNH TỰ:)	SE-HPLC sau khi tinh chế tất cả các bước % chính	SE-HPLC sau 40 °C trong 2 tuần		
					% HMW	% chính	% LMW
45	Dựa trên GLP1	10x(AP) (6)	10x(AP) (28)	98,68-100	5,32	92,6	2,13
33	Dựa trên GLP1	5x(G_4A) (18)	10x(AP) (28)	100	2,5	95,4	2,1
44	Dựa trên Exendin4	5x(AP) (5)	10x(AP) (28)	100	7,3	90,8	2,6
47	Dựa trên GLP1	25x(G) (22)	GA-8x(G_4A) (29)	100	0,91	93,9	5,19
48	Dựa trên GLP1	20x(G) (21)	GA-8x(G_4A) (29)	97,13	5,22	86,97	7,81
49	Dựa trên GLP1	4x(G_4A) (17)	GA-8x(G_4A) (29)	100	0,42	93,56	6,02
50	Dựa trên GLP1	5x(G_4A) (18)	GA-8x(G_4A) (29)	100	0,49	92,17	7,34
46	Dựa trên Exendin4	5x(AP) (5)	GA-8x(G_4A) (29)	100	5,9	74,5	19,6

Table 12: Tm cho protein dung hợp GLP1-GDF15 bằng phân tích nhiệt quét vi sai (DSC).

Bảng 14: Độ ổn định huyết tương người *ngoài cơ thể sống* theo xét nghiệm miễn dịch bằng kháng thể bắt giữ kháng GDF15 và kháng thể phát hiện kháng GLP1 (nhận diện GLP1 đầu N, đặc hiệu với dạng hoạt tính của GLP1).

	Nồng độ (µg/mL)							% phục hồi được chuẩn hóa đến 0 giờ						
Thời điểm (giờ)	ID TRÌNH TỰ: 50	ID TRÌNH TỰ: 33	ID TRÌNH TỰ: 49	ID TRÌNH TỰ: 48	ID TRÌNH TỰ: 47	ID TRÌNH TỰ: 45	ID TRÌNH TỰ: 44	ID TRÌNH TỰ: 50	ID TRÌNH TỰ: 33	ID TRÌNH TỰ: 49	ID TRÌNH TỰ: 48	ID TRÌNH TỰ: 47	ID TRÌNH TỰ: 45	ID TRÌNH TỰ: 44
0	11,45	10,93	11,28	11,54	11,50	11,99	12,04	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
4	11,60	10,86	10,85	11,44	11,00	11,35	10,88	101,3	99,4	96,2	99,1	95,7	94,6	90,4
24	10,32	10,50	10,17	10,43	10,08	10,64	9,73	90,2	96,1	90,2	90,4	87,7	88,7	80,8
48	9,07	9,66	9,47	9,40	8,28	10,26	8,95	79,2	88,4	83,9	81,5	72,0	85,6	74,3
72	8,68	9,22	8,71	8,76	6,30	9,17	9,13	75,8	84,4	77,3	75,9	54,8	76,4	75,9
96	8,37	9,71	7,94	8,24	6,62	9,14	8,21	73,1	88,8	70,4	71,4	57,6	76,2	68,2

Ví dụ 10: Dược động học nhiều loài

Dược động học chuột

Protein dung hợp GLP1-GDF15 có nguồn gốc từ SỐ ID TRÌNH TỰ: 50, 45, 46 và 44 được cho chuột cái C57Bl/6 với liều 5 mg/kg IV và SC trong PBS, pH 7. Các mẫu máu được thu thập, huyết tương được xử lý và các nồng độ thuốc được đo trong khoảng thời gian lên đến 4 ngày sau khi dùng thuốc bằng cả hai đường dùng. Nồng độ của chất phân tích trong huyết tương sau khi sử dụng IV và SC được đo bởi phân tích LC-MS/MS thủy phân ái lực miễn dịch bắt trypsin. Peptit trypsin được chọn, lần lượt là, ALV (ALVLIAFAQYLQQSPFEDHVK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:79), HGE-1 (HGEGTFTSDVSSYLEEQAAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:77), và HGE-2 (HGEGTFTSDLSK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:78), và TDT (TDTGVSLQTYDDLLAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:80), được đặt gần đầu N của protein HSA, đầu N của peptit GLP1 hoặc biến thể của tương ứng peptit GLP1 và đầu C của protein GDF15 hoặc biến thể protein GDF15. Theo dõi các peptit đại diện này được kích hoạt đánh giá dược động học của từng vùng (GLP1, HSA, GDF15) của protein dung hợp GLP1-GDF15. Mức thời gian-nồng độ thuốc trong trong huyết tương được tóm tắt trong Bảng 15-22.

SỐ ID TRÌNH TỰ:	Peptit GLP1 hoặc biến thể peptit GLP1	Peptit cầu nối thứ nhất (SỐ ID TRÌNH TỰ:)	Peptit cầu nối thứ hai (SỐ ID TRÌNH TỰ:)	Tm bằng DSC (°C)			
				Tm1	Tm2	Tm3	Tm4
45	Dựa trên GLP1	10x(AP) (6)	10x(AP) (28)	64,88	68,79	73,38	76,59
33	Dựa trên GLP1	5x(G_4A) (18)	10x(AP) (28)	63,96	68,38	73,37	76,44
47	Dựa trên GLP1	25x(G) (22)	GA-8x(G_4A) (29)	68,31	74,55	77,98	na
48	Dựa trên GLP1	20x(G) (21)	GA-8x(G_4A) (29)	64,74	69,28	74,27	77,15
49	Dựa trên GLP1	4x(G_4A) (17)	GA-8x(G_4A) (29)	64,64	69,58	74,29	77,04
50	Dựa trên GLP1	5x(G_4A) (18)	GA-8x(G_4A) (29)	63,39	67,78	72,8	75,99
46	Dựa trên Exendin4	5x(AP) (5)	GA-8x(G_4A) (29)	72,07	74,81	77,02	na
44	Dựa trên Exendin4	5x(AP) (5)	10x(AP) (29)	69,79	73,82	76,23	na

Ví dụ 9: Nghiên cứu huyết tương người *ngoài cơ thể sống*

Độ ổn định của protein dung hợp GLP1-GDF15 được đánh giá *ngoài cơ thể sống* trong huyết tương người. Tóm lại, huyết tương người mới, không được làm đông được tạo từ máu được chống đông bằng cách ly tâm. Protein dung hợp được ủ trong chất nền này ở 37 °C và được trộn nhẹ trong 0, 4, 24, 48, 72 và 96 giờ. Nồng độ phân tử dung hợp qua thời gian trong huyết tương người được theo dõi bằng bắt giữ ái lực miễn dịch với kháng thể kháng GDF15 và phát hiện miễn dịch với kháng thể kháng HSA ("dạng tổng") hoặc kháng thể đặc hiệu đầu N kháng GLP1 ("dạng hoạt tính GLP1"). Bảng 13 và 14 giải thích kết quả từ hai xét nghiệm miễn dịch này.

Bảng 13: Độ ổn định huyết tương người *ngoài cơ thể sống* theo xét nghiệm miễn dịch được đo bằng kháng thể bắt giữ kháng GDF15 và kháng thể phát hiện kháng HSA.

	Nồng độ (µg/mL)							% phục hồi được chuẩn hóa đến 0 giờ						
Thời điểm (giờ)	ID TRÌNH TỰ: 50	ID TRÌNH TỰ: 33	ID TRÌNH TỰ: 49	ID TRÌNH TỰ: 48	ID TRÌNH TỰ: 47	ID TRÌNH TỰ: 45	ID TRÌNH TỰ: 44	ID TRÌNH TỰ: 50	ID TRÌNH TỰ: 33	ID TRÌNH TỰ: 49	ID TRÌNH TỰ: 48	ID TRÌNH TỰ: 47	ID TRÌNH TỰ: 45	ID TRÌNH TỰ: 44
0	13,69	13,13	13,14	12,69	13,32	12,79	13,77	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
4	14,14	13,56	12,83	13,20	12,53	12,89	13,30	103,3	103,3	97,6	104,0	94,0	100,8	96,6
24	13,84	13,49	12,16	13,21	13,31	12,76	12,53	101,1	102,8	92,5	104,0	99,9	99,8	91,0
48	12,84	13,57	12,21	12,56	12,48	11,88	11,55	93,8	103,4	92,9	98,9	93,7	92,9	83,9
72	13,18	14,00	11,21	12,12	12,35	12,18	12,93	96,3	106,7	85,3	95,5	92,7	95,2	93,9
96	12,92	13,01	11,23	12,09	12,16	12,32	12,34	94,4	99,1	85,4	95,2	91,3	96,3	89,6

Bảng 15: Nồng độ huyết tương (µg/mL) và lỗi tiêu chuẩn của giá trị trung bình (SEM, n = 3) của SỐ ID TRÌNH TỰ:50 qua thời gian sau khi dùng một lần bằng cách tiêm dưới da (SC) trên chuột cái C57BL/6.

SC	Nồng độ (µg/mL)			SEM		
Thời gian (giờ)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)
2	14,780	15,140	16,360	0,905	1,014	1,063
6	26,700	37,300	30,180	1,248	5,012	1,563
24	19,980	36,780	28,880	0,691	2,956	0,944
48	10,716	22,940	19,640	0,330	1,677	0,458
72	5,034	10,790	12,960	0,286	0,525	0,631
96	2,450	7,218	8,444	0,244	0,844	0,699

Bảng 16: Nồng độ huyết tương (µg/mL) và lỗi tiêu chuẩn của giá trị trung bình (SEM, n = 3) của SỐ ID TRÌNH TỰ:50 qua thời gian sau khi dùng một lần bằng cách tiêm tĩnh mạch (IV) trên chuột cái C57BL/6.

IV	Nồng độ (µg/mL)			SEM		
Thời gian (giờ)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)
0,5	68,320	71,760	82,860	4,188	6,659	5,408
6	45,020	48,560	60,660	1,427	1,487	1,707
24	16,900	23,820	28,340	0,991	0,913	1,646
48	9,472	20,620	20,540	0,510	0,843	1,365
72	5,048	12,118	14,440	0,303	0,996	0,842
96	2,144	5,404	7,926	0,103	0,365	0,445

Bảng 17: Nồng độ huyết tương (µg/mL) và lỗi tiêu chuẩn của giá trị trung bình (SEM, n = 3) của SỐ ID TRÌNH TỰ:45 qua thời gian sau khi dùng một lần bằng cách tiêm dưới da (SC) trên chuột cái C57BL/6.

SC	Nồng độ (µg/mL)			SEM		
Thời gian (giờ)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)
2	13,536	12,032	12,512	3,674	3,373	3,499
6	21,780	20,540	22,120	3,155	2,770	3,161
24	18,020	27,580	26,520	1,712	3,014	2,732

48	8,856	20,060	18,980	0,469	1,183	1,248
72	4,348	18,180	15,260	0,329	1,697	1,065
96	1,786	9,866	9,676	0,164	0,907	0,854

Bảng 18: Nồng độ huyết tương (µg/mL) và lỗi tiêu chuẩn của giá trị trung bình (SEM, n = 3) của SỐ ID TRÌNH TỰ:45 qua thời gian sau khi dùng một lần bằng cách tiêm tĩnh mạch (IV) trên chuột cái C57BL/6.

IV	Nồng độ (µg/mL)			SEM		
Thời gian (giờ)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)
0,5	76,800	69,080	69,560	7,469	7,052	7,981
6	56,180	57,040	59,460	5,162	5,781	5,527
24	21,120	30,860	30,680	1,668	2,444	2,480
48	10,398	22,560	21,500	0,855	2,104	2,152
72	4,794	18,800	16,180	0,368	1,880	1,030
96	1,986	10,854	10,284	0,134	0,837	0,707

Bảng 19: Nồng độ huyết tương (µg/mL) và lỗi tiêu chuẩn của giá trị trung bình (SEM, n = 3) của SỐ ID TRÌNH TỰ:46 qua thời gian sau khi dùng một lần bằng cách tiêm dưới da (SC) trên chuột cái C57BL/6.

SC	Nồng độ (µg/mL)			SEM		
Thời gian (giờ)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)
2	3,420	2,850	3,720	0,376	0,311	0,337
6	5,718	6,522	7,516	0,730	0,704	0,609
24	4,792	8,504	9,154	0,398	0,708	0,858
48	2,146	5,766	6,910	0,389	0,541	0,455
72	0,689	2,818	3,286	0,061	0,260	0,336
96	0,205	1,270	1,516	0,026	0,137	0,186

Bảng 20: Nồng độ huyết tương (µg/mL) và lỗi tiêu chuẩn của giá trị trung bình (SEM, n = 3) của SỐ ID TRÌNH TỰ:46 sau khi dùng một lần bằng cách tiêm tĩnh mạch (IV) trên chuột cái C57BL/6.

IV	Nồng độ (µg/mL)			SEM		
Thời gian (giờ)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)
0,5	55,525	42,525	57,875	15,521	10,592	15,368
6	27,125	24,750	34,950	5,185	4,660	6,461
24	4,933	9,423	11,280	0,255	0,893	0,879
48	1,355	5,023	5,893	0,125	0,278	0,702
72	0,510	2,623	2,968	0,049	0,269	0,329
96	0,196	1,345	1,593	0,020	0,155	0,171

Bảng 21: Nồng độ huyết tương (µg/mL) và lỗi tiêu chuẩn của giá trị trung bình (SEM, n = 3) của SỐ ID TRÌNH TỰ:44 sau khi dùng một lần bằng cách tiêm dưới da (SC) trên chuột cái C57BL/6.

SC	Nồng độ (µg/mL)			SEM		
Thời gian (giờ)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)
2	6,340	6,124	6,792	2,029	1,845	2,289
6	8,534	10,310	10,672	1,697	1,721	1,876
24	4,646	10,098	10,018	0,969	1,801	1,874
48	1,879	6,264	6,480	0,486	1,171	1,162
72	0,691	3,678	3,694	0,153	0,766	0,760
96	0,194	1,758	1,860	0,048	0,304	0,331

Bảng 22: Nồng độ huyết tương (µg/mL) và lỗi tiêu chuẩn của giá trị trung bình (SEM, n = 3) của SỐ ID TRÌNH TỰ:44 sau khi dùng một lần bằng cách tiêm tĩnh mạch (IV) trên chuột cái C57BL/6.

IV	Nồng độ (mg/mL)			SEM		
Thời gian (giờ)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)	HGE (GLP1)	ALV (HSA)	TDT (GDF15)
0,5	57,920	53,300	60,760	4,648	3,971	4,489

6	29,560	33,360	37,400	2,266	2,199	2,176
24	4,564	10,420	10,684	0,424	0,393	0,560
48	1,300	6,276	6,022	0,217	0,312	0,250
72	0,540	3,396	3,562	0,040	0,257	0,195
96	0,159	1,784	1,804	0,025	0,180	0,123

Phân tích dược động học không ngăn (NCA) bằng cách sử dụng dữ liệu trong Bảng 15-22 bộc lộ thời gian bán thải đầu cuối là 14-23 giờ đối với peptit GLP1 hoặc biến thể peptit GLP1, 22-49 giờ đối với protein GDF15 hoặc biến thể protein GDF15 và 22-47 giờ đối với protein HSA sau khi sử dụng SC và IV gồm bốn protein dung hợp GLP1-GDF15 được thử nghiệm trên chuột C57BL/6 (Bảng 23).

Bảng 23: Thời gian bán thải ước tính của protein dung hợp GLP1-GDF15 khi sử dụng ID và SC 5 mg/kg trên chuột cái C57BL/6.

SỐ ID TRÌNH TỰ:	Khu vực	Thời gian bán thải (giờ) NCA Liều SC	Thời gian bán thải (giờ) NCA Liều IV
50	GDF15	39,4	39,8
50	GLP1	22,5	24,4
50	HSA	29,5	24,8
45	GDF15	49,4	46,7
45	GLP1	21,8	20,1
45	HSA	46,9	38,3
46	GDF15	21,9	25,4
46	GLP1	14,2	17,2
46	HSA	22,0	25,3
44	GDF15	26,7	28,4
44	GLP1	15,8	15,2
44	HSA	28,8	26,5

Dược động học khỉ

Protein dung hợp GLP1-GDF15 có nguồn gốc từ SỐ ID TRÌNH TỰ:33, 50, 45, 46 và 44 được cho khỉ đuôi dài (*Macaca fascicularis*) sử dụng với liều SC 0,5 mg/kg trong PBS, pH 7. Các mẫu máu được thu thập, huyết tương được xử lý và các nồng độ thuốc được đo trong khoảng thời gian lên đến 21 ngày bằng cách sử dụng phân tích sinh học xét

nghiệm miễn dịch. Chiến lược xét nghiệm miễn dịch bao gồm kháng thể bắt GDF15 và phát hiện với kháng thể nhận diện GLP1 nguyên vẹn ("Hoạt tính") hoặc kháng thể nhận diện HSA ("Tổng"). Mức thời gian-nồng độ thuốc trong huyết tương được tổng hợp trong Bảng 24 và 25.

Bảng 24: Nồng độ huyết tương trung bình (Avg, n=3) (ng/mL) của SỐ ID TRÌNH TỰ hoạt tính: 33, 50, 45, 46 và 44 qua thời gian sau khi cho sử dụng SC một lần trên khỉ đuôi dài như được xác định bằng xét nghiệm miễn dịch.

GLP1 hoạt tính (ng/mL)	Thời điểm	SỐ ID TRÌNH TỰ:46	SỐ ID TRÌNH TỰ:44	SỐ ID TRÌNH TỰ:45	SỐ ID TRÌNH TỰ:50	SỐ ID TRÌNH TỰ:33
	Cho liều trước	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50	<1,25
	6 giờ	1747,72	2530,81	2457,83	1667,36	1880,02
	24 giờ	3057,60	3492,18	3946,41	3191,24	3151,63
	48 giờ	3177,96	3416,86	3655,95	3643,12	3448,62
	72 giờ	2689,49	3013,14	3015,11	2991,62	2949,14
	120 giờ	1501,85	1669,39	1402,39	2029,62	1991,88
	168 giờ	813,84	1020,04	725,75	1208,07	1246,28
	240 giờ	378,81	471,08	265,28	564,57	583,56
	336 giờ	137,73	192,90	81,18	197,74	211,92
	432 giờ	53,16	61,11	25,47	70,28	79,78
	528 giờ	23,10	35,96	10,60	25,70	36,59

Bảng 25: Nồng độ huyết tương trung bình (Avg, n=3) (ng/mL) của SỐ ID TRÌNH TỰ Tổng: 33, 50, 45, 46 và 44 qua thời gian sau khi cho sử dụng SC một lần trên khỉ đuôi dài như được xác định bằng xét nghiệm miễn dịch.

Tổng (ng/mL)	Thời điểm	SỐ ID TRÌNH TỰ:46	SỐ ID TRÌNH TỰ:44	SỐ ID TRÌNH TỰ:45	SỐ ID TRÌNH TỰ:50	SỐ ID TRÌNH TỰ:33
	Cho liều trước	<5,00	<5,00	<5,00	<5,00	<5,00
	6 giờ	1628,27	2299,98	2139,00	1427,28	1726,39
	24 giờ	3350,99	3873,18	4639,00	3430,23	3451,14
	48 giờ	3956,92	4427,70	5607,40	4892,71	4542,34
	72 giờ	3672,20	4399,17	5310,44	4303,43	4514,28
	120 giờ	2699,22	3612,21	4616,56	4133,96	4114,96

	168 giờ	1930,94	2745,57	3902,73	3237,20	3431,95
	240 giờ	1261,95	1964,84	2820,20	2353,01	2504,95
	336 giờ	719,72	1357,09	2005,69	1597,70	1682,87
	432 giờ	442,57	806,98	1399,11	964,85	1096,51
	528 giờ	328,35	532,75	961,88	708,00	879,52

Phân tích dược động học của dữ liệu trong Bảng 24 và 25 bộc lộ thời gian bán thải đầu cuối 2-3 ngày đối với phân tử hoạt tính và 5-8 ngày đối với tổng phân tử trên khỉ đuôi dài sau khi cho sử dụng SC (Bảng 26).

Bảng 26: Thời gian bán thải đầu cuối của SỐ ID TRÌNH TỰ:50, 33, 45, 46 và 44 sau khi cho sử dụng SC 0,5 mg/kg trong khỉ đuôi dài.

SỐ ID TRÌNH TỰ:	Phát hiện	thời gian bán thải (d)
44	Hoạt tính	3,2
	Tổng	6,6
46	Hoạt tính	2,6
	Tổng	4,6
50	Hoạt tính	2,9
	Tổng	6,6
45	Hoạt tính	2,3
	Tổng	7,6
33	Hoạt tính	3,0
	Tổng	7,8

Ví dụ 11: tính hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* của protein dung hợp GLP1-GDF15

Đánh giá lượng thu nạp thức ăn trên chuột đực C57BL/6: Mục đích của thí nghiệm này là để chứng minh tác dụng dược động học của phần tử tương ứng với SỐ ID TRÌNH TỰ 50, 33, 49, 45, 46 và 44 đối với ức chế lượng thu nạp thức ăn trên chuột C57BL/6. Lượng thu nạp thức ăn 24 giờ được đo trước và sau khi cho tiêm dưới da GLP1-GDF15 (thành phần thử nghiệm) hoặc đối chứng (PBS chất mang hoặc Dulaglutit) từ 4:00 và 5:00 pm. Thay đổi khối lượng thức ăn đối với từng chuồng được ghi lại 24 giờ một lần. Kết quả được biểu hiện dưới dạng thay đổi phần trăm trong lượng thu nạp thức ăn so với 24 giờ trước khi điều trị và phụ thuộc một phần vào nồng

độ lưu hành của từng thành phần thử nghiệm được sử dụng trong nghiên cứu (HÌNH 4). Nồng độ lưu hành của thành phần thử nghiệm được xác định 24 giờ sau khi sử dụng phân tích LC-MS/MS thủy phân ái lực miễn dịch bắt trypsin. Peptit trypsin được chọn được theo dõi, lần lượt là, ALV (ALVLIAFAQYLQQSPFEDHVK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:79), HGE-1 (HGEGTFTSDVSSYLEEQAAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:77), và HGE-2 (HGEGTFTSDLSK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:78), và TDT (TDTGVSLQTYDDLLAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:80), được đặt gần đầu N của protein HSA, đầu N của peptit GLP1 hoặc biến thể của tương ứng peptit GLP1 và đầu C của protein GDF15 hoặc biến thể protein GDF15. Peptit VVS (VVSVLTVLHQDWLNGK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:82) được đặt trong phần Fc của Dulaglutit. Theo dõi các peptit đại diện này được kích hoạt đánh giá dược động học của từng vùng (GLP1, HSA, GDF15) của protein dung hợp GLP1-GDF15. Nồng độ thuốc trong huyết tương được minh họa trong HÌNH 5. Kết quả chỉ báo rằng việc sử dụng tiêm dưới da các SỐ ID TRÌNH TỰ:50, 33, 49, 45, 46 và 44 đối với chuột C57BL/6 ức chế đáng kể lượng thu nạp thức ăn so với động vật được điều trị bằng chất mang.

Đánh giá lượng thu nạp thức ăn qua trung gian GLP1R ảnh hưởng lên chuột bị khử gen GFRAL: Ức chế thu nạp thức ăn trên chuột C57BL/6 là kết quả của gắn kết cả GLP1R và GDF15R (GFRAL). Để xác định ảnh hưởng cụ thể GLP1R của các SỐ ID TRÌNH TỰ:50, 33, 45, 46 và 44 lên thu nạp thức ăn, chuột thiếu GFRAL được sử dụng. Mục tiêu của các thí nghiệm này là xác định mức độ gắn kết GLP1R bằng protein dung hợp khi chúng được sử dụng với liều lượng được dự đoán là có hiệu quả đối với dung hợp HSA-GDF15 ở chuột (HÌNH 1 và 2 và US20170327560A1). Lượng thu nạp thức ăn 24 giờ được đo trước và sau khi cho tiêm GLP1-GDF15 dưới da (thành phần thử nghiệm: 3 và 10 nmol/kg) hoặc đối chứng (chất mang PBS hoặc Dulaglutit) từ 4:00 đến 5:00 pm. Thay đổi khối lượng thức ăn đối với từng chuồng được ghi lại 24 giờ một lần. Nồng độ tuần hoàn của phân tử dung hợp chứa peptit GLP1 nguyên vẹn hoặc biến thể peptit GLP1 được xác định 24 giờ sau khi sử dụng phân tích LC-MS/MS -thủy phân ái lực miễn dịch bắt trypsin và theo dõi chọn lọc peptit trypsin, HGE-1 (HGEGTFTSDVSSYLEEQAAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:77) hoặc HGE-2 (HGEGTFTSDLSK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:78) được đặt gần đầu N của peptit GLP1 hoặc biến thể peptit GLP1. Kết quả được vẽ biểu đồ dưới dạng thay đổi phần trăm trong lượng thu nạp thức ăn so với nồng độ trong huyết tương của peptit HGE (peptit GLP1 nguyên vẹn hoặc biến thể peptit GLP1) (HÌNH 6, 7 và 8).

Kết quả chỉ báo việc cung cấp protein dung hợp có SỐ ID TRÌNH TỰ: 50, 33, 45, 46 và 44 dẫn đến gắn kết GLP1R ở những liều mà trước đây đã được chứng minh là có hiệu quả đối với HSA-GDF15. Đáng ngạc nhiên là sự gắn kết GLP1R tạo ra đáp ứng dược lực học mong muốn tương tự như Dulaglutit chủ vận Fc-GLP1 mặc dù có mức độ tiếp xúc gốc GLP1 lớn hơn Dulaglutit 10-30 lần. Nếu thành phần GLP1 của protein dung hợp mạnh như Dulaglutit *trong cơ thể sống,* thì mức gắn kết GLP1R sẽ cao hơn nhiều so với mong muốn, có khả năng gây ra các tác dụng phụ đã được dự đoán trước ở người như nôn và buồn nôn. Vì vậy, việc cung cấp peptit GLP1 làm dung hợp với HSA-GDF15 ảnh hưởng đến tính hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* ở GLP1R theo cách cho phép cân bằng hai chất chủ vận.

Đánh giá khả năng dung nạp glucoza qua trung gian GLP1R ở chuột DIO nhịn ăn: Cơ chế đồng vận GLP1R trong tuyến tụy dẫn đến tăng cường bài tiết insulin và tăng hấp thu glucoza và có thể được đo bằng xét nghiệm dung nạp glucoza trong màng bụng ở chuột béo phì do chế độ ăn. Mục tiêu của các thí nghiệm này là xác định mức độ gắn kết GLP1R bằng protein dung hợp khi chúng được sử dụng với liều lượng được dự đoán là có hiệu quả đối với dung hợp HSA-GDF15 ở chuột (HÌNH 1 và 2 và US20170327560A1). Chuột đực C57BL/6 được duy trì trên Research Diet D12492 từ 6 tuần tuổi cho đến khi bắt đầu liều ở 20 tuần tuổi để gây béo phì. Các phép đo cân nặng cơ thể và glucoza trong máu sau ăn được sử dụng để phân ngẫu nhiên những con chuột vào các nhóm điều trị. Vào lúc 4:00 pm, chuột được chuyển sang chuồng sạch và được tiếp xúc với nước; thức ăn được giữ lại trong suốt quá trình nghiên cứu. Đối chứng (Chất mang PBS và Dulaglutit) và thành phần thử nghiệm (SỐ ID TRÌNH TỰ:33, 50, 49, 45, 46, 44 và 36) (1, 3 và 10 nmol/kg) được sử dụng dưới da tại thời điểm loại bỏ thức ăn. 17 giờ sau khi dùng, glucoza ở đường cơ sở được thu thập và 1 g glucoza được truyền vào màng bụng cho mỗi kg cân nặng cơ thể. Glucoza trong máu được đo vào các thời điểm 10, 30, 60 và 120 phút sau khi cho truyền nhanh glucoza. Nồng độ huyết tương tuần hoàn của phân tử dung hợp chứa peptit GLP1 nguyên vẹn hoặc biến thể peptit GLP1 được xác định ngay sau thời điểm 120 phút bằng phân tích LC-MS/MS -thủy phân ái lực miễn dịch bắt trypsin và theo dõi chọn lọc peptit trypsin, HGE-1 (HGEGTFTSDVSSYLEEQAAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:77) hoặc HGE-2 (HGEGTFTSDLSK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:78) được đặt gần đầu N của peptit GLP1 hoặc biến thể peptit GLP1. Glucoza được vẽ biểu đồ dưới dạng hàm số của thời gian và diện

tích dưới đường cong sau khi chuẩn hóa về mức glucoza ở đường cơ sở (Delta AUC) được tính toán cho mỗi con vật. Kết quả được vẽ biểu đồ dưới dạng thay đổi phần trăm trong Delta AUC (so với điều trị bằng chất mang) so với nồng độ trong huyết tương của peptit HGE (chất chủ vận GLP1 nguyên vẹn) (Hình 9, 10, 11 và 12). Kết quả chỉ ra rằng việc phân phối các protein dung hợp có SỐ ID TRÌNH TỰ:33, 50, 49, 45, 46, 44 và 36 dẫn đến gắn kết GLP1R ở những liều mà trước đây đã được chứng minh là có hiệu quả đối với HSA-GDF15. Đáng ngạc nhiên là sự gắn kết GLP1R tạo ra đáp ứng dược lực học mong muốn tương tự như Dulaglutit chủ vận Fc-GLP1 mặc dù có mức độ tiếp xúc gốc GLP1 lớn hơn Dulaglutit 10-30 lần. Nếu thành phần GLP1 của protein dung hợp mạnh như Dulaglutit *trong cơ thể sống,* thì mức gắn kết GLP1R sẽ cao hơn nhiều so với mong muốn, có khả năng gây ra các tác dụng phụ đã được dự đoán trước ở người như nôn và buồn nôn. Vì vậy, việc cung cấp peptit GLP1 làm dung hợp với HSA-GDF15 ảnh hưởng đến tính hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* ở GLP1R theo cách cho phép cân bằng hai chất chủ vận.

Đánh giá gắn kết GLP1R trên linh trưởng với truyền glucoza được xếp loại: Sự bài tiết insulin khi truyền glucoza phân loại vào tĩnh mạch (GGI) ở linh trưởng không phải người được sử dụng để đánh giá sự gắn kết GLP1R của SỐ ID TRÌNH TỰ:45 và 44. Mục tiêu của các thí nghiệm này là xác định mức độ gắn kết GLP1R bằng protein dung hợp khi dung hợp được sử dụng với liều lượng được dự đoán là có hiệu quả đối với dung hợp HSA-GDF15 trên linh trưởng không phải người (Mullican và cộng sự, 2017 và US20170327560A1). Quy trình GGI được tiến hành trên khỉ đuôi dài được an thần sau 16 giờ nhịn ăn qua đêm để so sánh các phản ứng ở đường cơ sở và phản ứng điều trị với thời gian hồi phục 14 ngày giữa hai quy trình GGI. Vào ngày thứ nhất, các con vật được cho dùng liều với chất mang ngay sau khi đã loại bỏ thức ăn. Vào ngày thứ 2, chúng được gây mê và đường cơ sở được thiết lập với hai mẫu máu được lấy cách nhau 10 phút. GGI1 được bắt đầu lúc 0 phút với tốc độ truyền glucoza 8 mg/kg/phút, tiếp theo là truyền 12, 16 và 24 mg/kg/phút. Mỗi tốc độ truyền được thực hiện trong thời gian 40 phút. Các mẫu máu được lấy trong khoảng thời gian 20 phút để đo lượng glucozae, insulin và C-peptit, kết quả được vẽ biểu đồ dưới dạng hàm số của thời gian và diện tích dưới đường cong (AUC) được xác định cho từng chất phân tích đo được ở mỗi con vật. Sau đó, các con vật được phân ngẫu nhiên vào các nhóm điều trị bằng thành phần thử nghiệm dựa trên tỷ lệ tiết insulin (ISR) ở thời điểm khởi điểm của chúng từ

GGI1. Vào ngày thứ 15, chúng được cho dùng liều với thành phần thử nghiệm ở các nồng độ liều khác nhau (0,1 đến 1,1 mg/kg protein dung hợp và 0,016 đến 0,1 Dulaglutit) trước khi nhịn ăn qua đêm. GGI thứ hai (GGI2) được thực hiện vào ngày 16 như được mô tả cho ngày 2. Tiếp xúc với hợp chất được đánh giá trên các mẫu huyết tương thu thập được tại thời điểm 0 trước khi truyền glucoza bằng xét nghiệm miễn dịch được thiết kế đặc biệt để theo dõi thành phần thử nghiệm có peptit GLP1 hoặc biến thể peptit nguyên vẹn. Dữ liệu trong HÌNH 13 được báo cáo là sự thay đổi định lượng do điều trị trong ISR AUC được chuẩn hóa thành AUC glucoza so với thời điểm khởi điểm với nồng độ huyết tương của thành phần thử nghiệm có GLP1 nguyên vẹn. Dulaglutit được sử dụng như một chất tham chiếu chất chủ vận Fc-GLP1. Kết quả chỉ ra rằng việc phân phối các protein dung hợp có SỐ ID TRÌNH TỰ: 45 và 44 dẫn đến gắn kết GLP1R ở những liều mà trước đây đã được chứng minh là có hiệu quả đối với HSA-GDF15. Đáng ngạc nhiên là sự gắn kết GLP1R tạo ra đáp ứng dược lực học mong muốn tương tự như Dulaglutit chủ vận Fc-GLP1 mặc dù có mức độ tiếp xúc gốc GLP1 lớn hơn Dulaglutit 10-30 lần. Nếu thành phần GLP1 của protein dung hợp mạnh như Dulaglutit *trong cơ thể sống,* thì mức gắn kết GLP1R sẽ cao hơn nhiều so với mong muốn, có khả năng gây ra các tác dụng phụ đã được dự đoán trước ở người như nôn và buồn nôn. Vì vậy, việc cung cấp peptit GLP1 làm dung hợp với HSA-GDF15 ảnh hưởng đến tính hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* ở GLP1R theo cách cho phép cân bằng hai chất chủ vận.

Các kết quả được minh họa trong các HÌNH 6-13 chứng minh rằng hoạt tính hoặc tính hiệu nghiệm *trong cơ thể sống* của GLP1 ở các loài tiền lâm sàng bị giảm trong chất chủ vận kép GLP1-GDF15 đồng đime so với Peptit GLP1 được dung hợp Fc của Dulaglutit. Điều này cho phép cân bằng cả hai chất chủ vận (peptit GLP1 hoặc biến thể peptit GLP1 và protein GDF15 hoặc biến thể protein GDF15) trên một phân tử; do đó, cho phép cung cấp peptit GLP1 hoặc biến thể peptit GLP1 ở nồng độ hiệu quả cũng đạt được tiếp xúc với protein GDF15 hoặc biến thể protein GDF15 trong phạm vi điều trị đã dự đoán.

Đánh giá hiệu quả giảm cân nặng cơ thể của protein dung hợp GLP1-GDF15 sau khi cho dùng liều lặp lại trên chuột: Khả năng làm giảm cân nặng cơ thể của protein dung hợp GLP1-GDF15 đã được thử nghiệm trên những con chuột béo phì do chế độ ăn. Chuột được tiêm dưới da với các nồng độ thành phần thử nghiệm khác nhau(SỐ ID TRÌNH TỰ:45 và 44), Dulaglutit hoặc đối chứng chất mang hàng ngày trong bảy ngày. Cân nặng cơ thể

được theo dõi trong suốt nghiên cứu và HÌNH 14 cho thấy thay đổi phần trăm trong cân nặng cơ thể theo thời gian so với Ngày 0 (ngay trước liều thứ nhất). Nồng độ lưu hành của thành phần thử nghiệm được xác định sau bảy ngày điều trị bằng phân tích LC-MS/MS thủy phân ái lực miễn dịch bắt trypsin. Peptit trypsin được chọn được theo dõi, lần lượt là, ALV (ALVLIAFAQYLQQSPFEDHVK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:79), HGE-1 (HGEGTFTSDVSSYLEEQAAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:77), và HGE-2 (HGEGTFTSDLSK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:78), và TDT (TDTGVSLQTYDDLLAK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:80), được đặt gần đầu N của protein HSA, đầu N của peptit GLP1 hoặc biến thể của tương ứng peptit GLP1 và đầu C của protein GDF15 hoặc biến thể protein GDF15. Peptit VVS (VVSVLTVLHQDWLNGK) (SỐ ID TRÌNH TỰ:82) được đặt trong phần Fc của Dulaglutit. Theo dõi các peptit đại diện này được kích hoạt đánh giá dược động học của từng vùng (GLP1, HSA, GDF15) của protein dung hợp GLP1-GDF15. Nồng độ thuốc trong huyết tương được minh họa trong HÌNH 15. Kết quả chỉ báo việc sử dụng lặp lại SỐ ID TRÌNH TỰ: 45 và 44 dẫn đến suy hao khối lượng trên chuột béo phì do chế độ ăn theo cách phụ thuộc vào nhiệt độ.

Đánh giá ảnh hưởng lên lượng thu nạp thức ăn của protein dung hợp GLP1-GDF15 trên linh trưởng không phải con người.

Khả năng của protein dung hợp GLP1-GDF15 trong việc giảm lượng thu nạp thức ăn đã được thử nghiệm ở khỉ đuôi dài béo phì tự nhiên. Các đối tượng được tiêm dưới da với các nồng độ thành phần thử nghiệm khác nhau có và không có gốc GLP1 hoạt tính (SỐ ID TRÌNH TỰ: lần lượt là 44 và 83; SỐ ID TRÌNH TỰ:83, bao gồm peptit HSA được dung hợp với cầu nối AP10 được dung hợp với peptit GDF15, trước đây đã được bộc lộ trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 10,336,812) hoặc chất mang QW trong thời gian 4 tuần. Lượng thu nạp thức ăn được theo dõi trước khi dùng liều và trong suốt quá trình nghiên cứu. Sự thay đổi phần trăm trong 3 ngày trong lượng thu nạp thức ăn ở thời điểm khởi điểm và sau mỗi lần sử dụng thành phần thử nghiệm được minh họa trong HÌNH 16. Nồng độ của SỐ ID TRÌNH TỰ: 44 và 83 trong huyết tương khỉ đuôi dài trong nghiên cứu được xác định bằng cách sử dụng hai phương pháp xét nghiệm miễn dịch riêng biệt để phát hiện phân tử "tổng" (phát hiện HSA) và gốc GLP1 "hoạt tính" (phát hiện peptit GLP1 đầu N). Các nồng độ thuốc trong huyết tương được minh họa trong HÌNH 17 và 18. Kết quả chỉ báo rằng việc sử dụng các SỐ ID TRÌNH TỰ: 44 và 83 làm giảm lượng thu nạp thức ăn ở động vật linh trưởng không phải con người béo phì tự nhiên.

Đánh giá hiệu quả về cân nặng cơ thể và lượng thu nạp thức ăn của protein dung hợp GLP1-GDF15 sau 21 ngày tăng liều ở động vật linh trưởng không phải người.

Khả năng của protein dung hợp GLP1-GDF15 trong việc giảm lượng thu nạp thức ăn và làm giảm cân nặng cơ thể đã được thử nghiệm ở khỉ đuôi dài béo phì tự nhiên. Các đối tượng được tiêm dưới da các thành phần thử nghiệm có chứa cả GDF15 và GLP1 hoạt tính, chỉ GDF15 hoạt tính hoặc chỉ phần tử GLP1 hoạt tính (SỐ ID TRÌNH TỰ: lần lượt là 44, 83, 84; SỐ ID TRÌNH TỰ:84 bao gồm peptit GLP1 được dung hợp với peptit cầu nối AP5 được dung hợp với peptit HSA được dung hợp với peptit cầu nối AP10 được dung hợp với peptit GDF15 có đột biến I89R; peptit GDF15 có đột biến I89R đã được bộc lộ trước đây trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 10.336.812) ba ngày một lần trong khoảng thời gian 21 ngày. Liều ban đầu được cho vào Ngày 0 là 0,7 nmol/kg và được tăng lên đến 20 nmol/kg theo mỗi lần cho sử dụng. Lượng thu nạp thức ăn trước khi dùng liều, trong khoảng thời gian điều trị 21 ngày và trong quá trình rửa trôi thành phần thử nghiệm được minh họa trong HÌNH 19. Cân nặng cơ thể được theo dõi trong suốt nghiên cứu và HÌNH 20 cho thấy thay đổi phần trăm trong cân nặng cơ thể theo thời gian so với thời điểm khởi điểm. Nồng độ thành phần thử nghiệm trên huyết tương khỉ đuôi dài trong quá trình nghiên cứu được xác định bằng cách sử dụng hai phương pháp xét nghiệm miễn dịch riêng biệt để phát hiện phân tử "tổng" (phát hiện HSA; SỐ ID TRÌNH TỰ: 44, 83, 84) và gốc GLP1 "hoạt tính" (phát hiện peptit GLP1 đầu N; đối với SỐ ID TRÌNH TỰ: duy nhất 44 và 84). Nồng độ thuốc trong huyết tương được minh họa trong HÌNH 21 và 22. Kết quả chỉ báo rằng việc sử dụng lặp lại các SỐ ID TRÌNH TỰ: 44, 83, 84 dẫn đến giảm lượng thu nạp thức ăn và tiếp đến là giảm cân nặng cơ thể ở các động vật linh trưởng béo phì tự nhiên.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu là có thể có những phương án thay đổi so với các phương án được mô tả ở phần trên mà không tách rời ý tưởng chung của sáng chế. Do đó, cần hiểu rằng sáng chế này không bị giới hạn trong các phương án cụ thể được bộc lộ, mà sáng chế dự kiến bao gồm cả các phương án cải biến nhưng vẫn thuộc ý tưởng và phạm vi của sáng chế, như được nêu trong bản mô tả này.

Tất cả các tài liệu được trích dẫn trong tài liệu này đều có trong phần tham khảo.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Protein dung hợp yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15)-peptit giống như glucagon 1 (GLP1), trong đó protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm từ gốc N đến gốc C, peptit GLP1, peptit cầu nối thứ nhất, protein albumin huyết thanh, peptit cầu nối thứ hai và protein GDF15.

2. Protein dung hợp GLP1-GDF15 theo điểm 1, trong đó peptit GLP1 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm chỉ bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ:1-4.

3. Protein dung hợp GLP1-GDF15 theo điểm 1, trong đó peptit cầu nối thứ nhất bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm chỉ bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ:5-25.

4. Protein dung hợp GLP1-GDF15 theo điểm 1, trong đó protein albumin huyết thanh bao gồm trình tự axit amin được chọn từ SỐ ID TRÌNH TỰ:26 hoặc SỐ ID TRÌNH TỰ:27.

5. Protein dung hợp GLP1-GDF15 theo điểm 1, trong đó peptit cầu nối thứ hai bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm chỉ bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ:28-30.

6. Protein dung hợp GLP1-GDF15 theo điểm 1, trong đó protein GDF15 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ SỐ ID TRÌNH TỰ:31 hoặc SỐ ID TRÌNH TỰ:32.

7. Protein dung hợp GLP1-GDF15 theo điểm 1, trong đó protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm chỉ bao gồm SỐ ID TRÌNH TỰ:33-74 và 84, tốt hơn là protein dung hợp GLP1-GDF15 bao gồm trình tự axit amin SỐ ID TRÌNH TỰ:44.

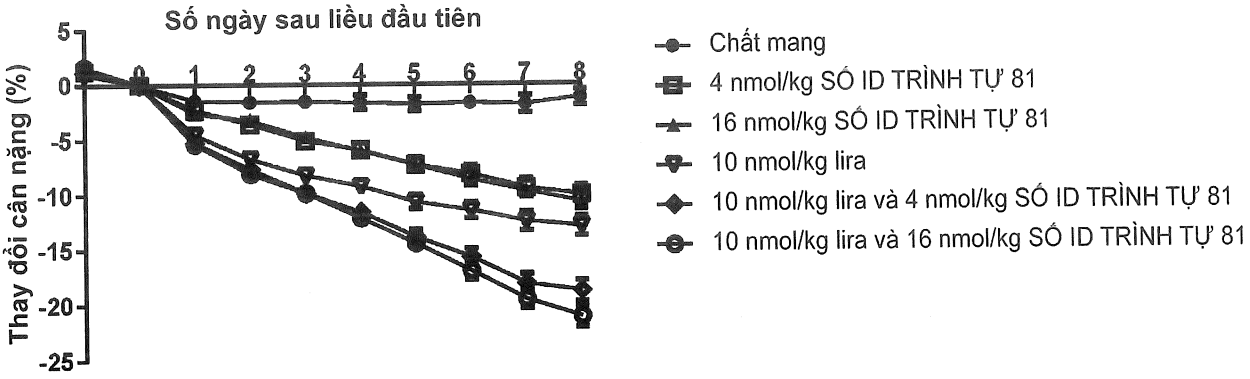
8. Axit nucleic được phân lập mã hóa protein dung hợp GLP1-GDF15 theo điểm 1.

9. Vectơ bao gồm axit nucleic được phân lập theo điểm 8.

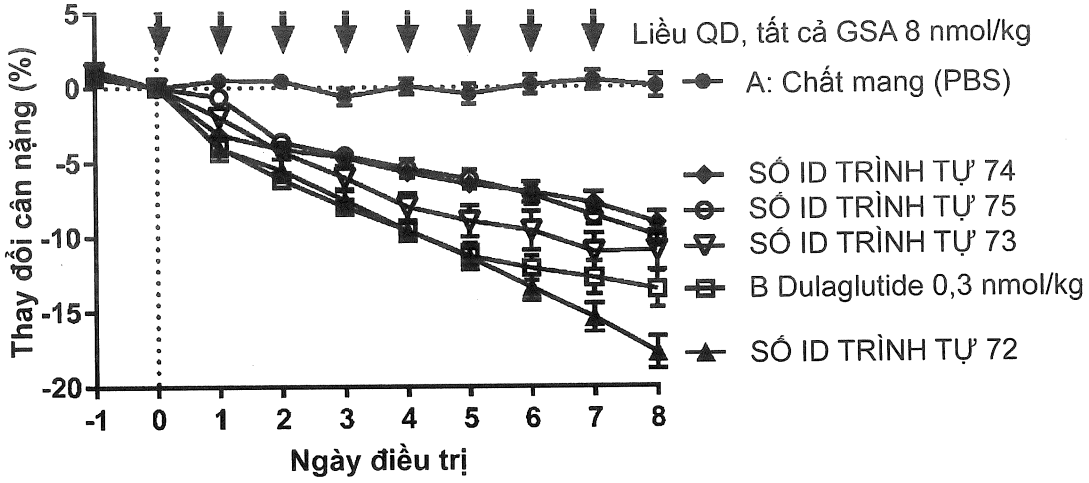
10. Tế bào chủ bao gồm axit nucleic phân lập theo điểm 8 hoặc vectơ theo điểm 9.

11. Dược phẩm bao gồm protein dung hợp GLP1-GDF15 theo điểm 1 và chất mang dược dụng.

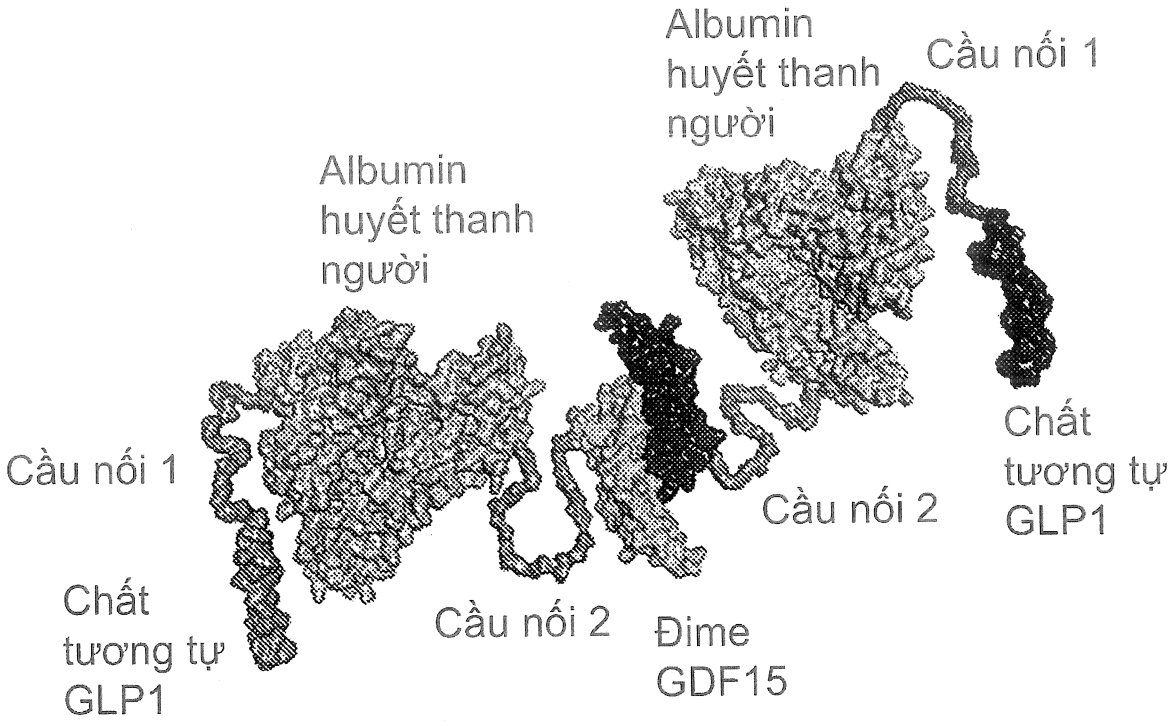
12. Bộ kit chứa protein dung hợp GLP1-GDF15 theo điểm 1, axit nucleic phân lập theo điểm 8 và/hoặc vectơ theo điểm 9.


Số ngày sau liều đầu tiên
Thay đổi cân nặng (%)
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Chất mang
4 nmol/kg SỐ ID TRÌNH TỰ 81
16 nmol/kg SỐ ID TRÌNH TỰ 81
10 nmol/kg lira
10 nmol/kg lira và 4 nmol/kg SỐ ID TRÌNH TỰ 81
10 nmol/kg lira và 16 nmol/kg SỐ ID TRÌNH TỰ 81

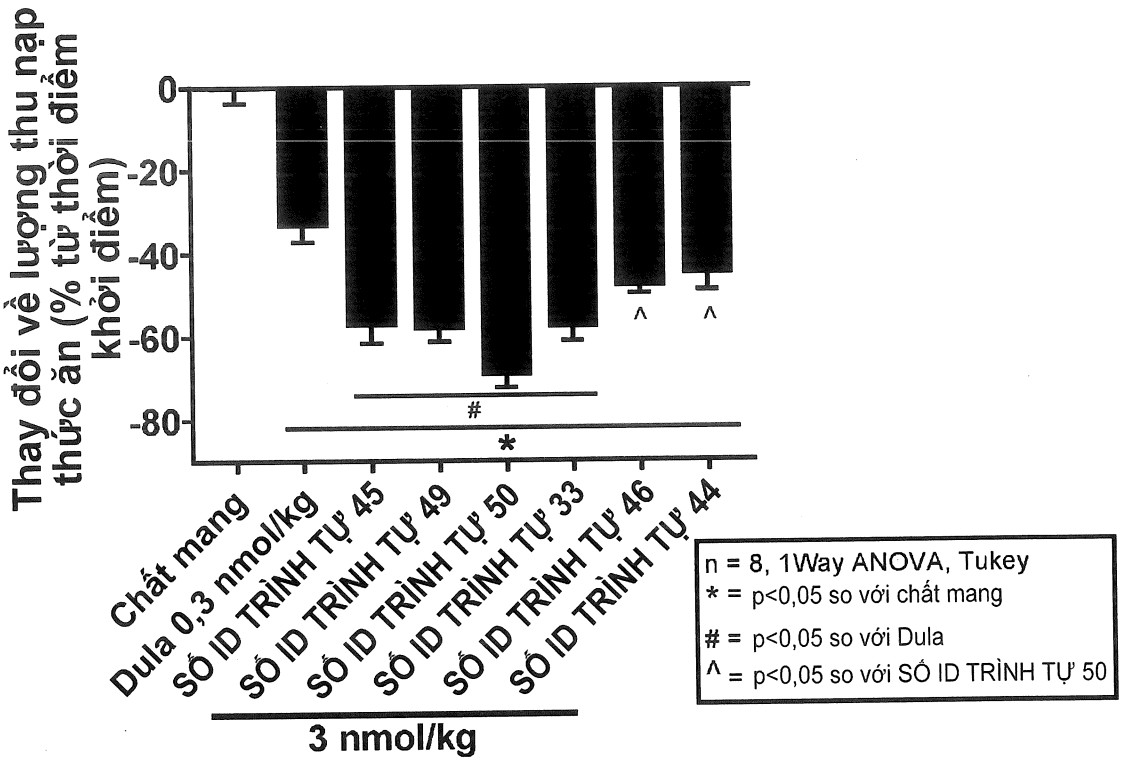
HÌNH 1


Liều QD, tất cả GSA 8 nmol/kg
A: Chất mang (PBS)
SỐ ID TRÌNH TỰ 74
SỐ ID TRÌNH TỰ 75
SỐ ID TRÌNH TỰ 73
B Dulaglutide 0,3 nmol/kg
SỐ ID TRÌNH TỰ 72
Thay đổi cân nặng (%)
5
0
-5
-10
-15
-20
-1
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Ngày điều trị

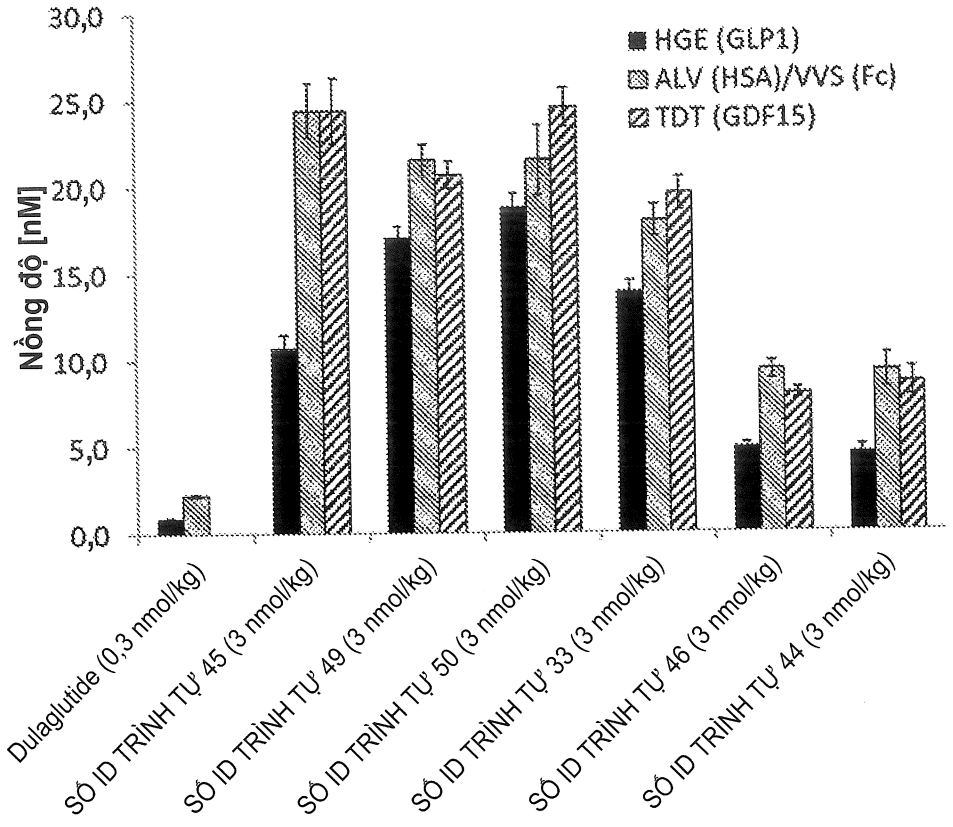
HÌNH 2


Albumin
huyết thanh
người
Cầu nối 1
Albumin
huyết thanh
người
Cầu nối 1
Chất
tương tự
GLP1
Cầu nối 2
Chất
tương tự
GLP1
Cầu nối 2
Đime
GDF15

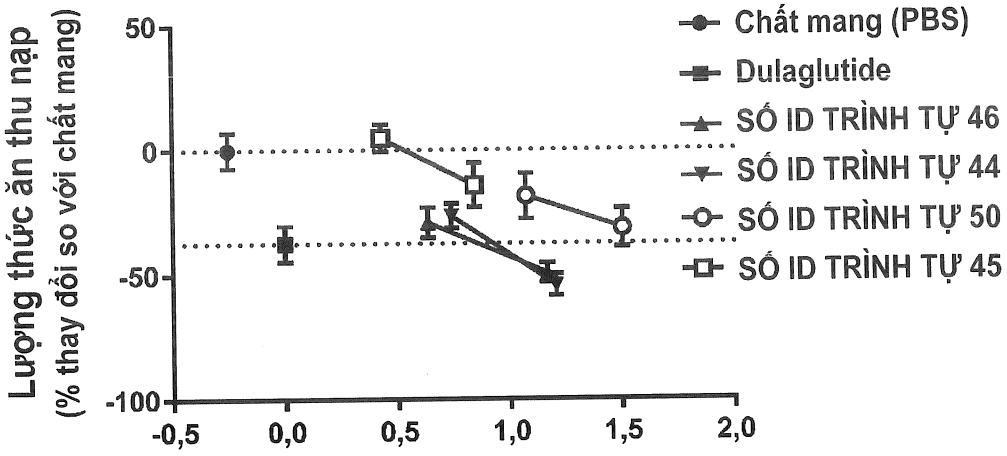
HÌNH 3


Thay đổi về lượng thu nạp thức ăn (% từ thời điểm khởi điểm)
0
-20
-40
-60
-80
#
*
^
^
Chất mang
Dula 0,3 nmol/kg
SỐ ID TRÌNH TỰ 45
SỐ ID TRÌNH TỰ 49
SỐ ID TRÌNH TỰ 50
SỐ ID TRÌNH TỰ 33
SỐ ID TRÌNH TỰ 46
SỐ ID TRÌNH TỰ 44
3 nmol/kg
n = 8, 1Way ANOVA, Tukey
* = p<0,05 so với chất mang
= p<0,05 so với Dula
^ = p<0,05 so với SỐ ID TRÌNH TỰ 50

HÌNH 4


30,0
25,0
20,0
15,0
10,0
5,0
0,0
Nồng độ [nM]
HGE (GLP1)
ALV (HSA)/VVS (Fc)
TDT (GDF15)
Dulaglutide (0,3 nmol/kg)
SỐ ID TRÌNH TỰ 45 (3 nmol/kg)
SỐ ID TRÌNH TỰ 49 (3 nmol/kg)
SỐ ID TRÌNH TỰ 50 (3 nmol/kg)
SỐ ID TRÌNH TỰ 33 (3 nmol/kg)
SỐ ID TRÌNH TỰ 46 (3 nmol/kg)
SỐ ID TRÌNH TỰ 44 (3 nmol/kg)

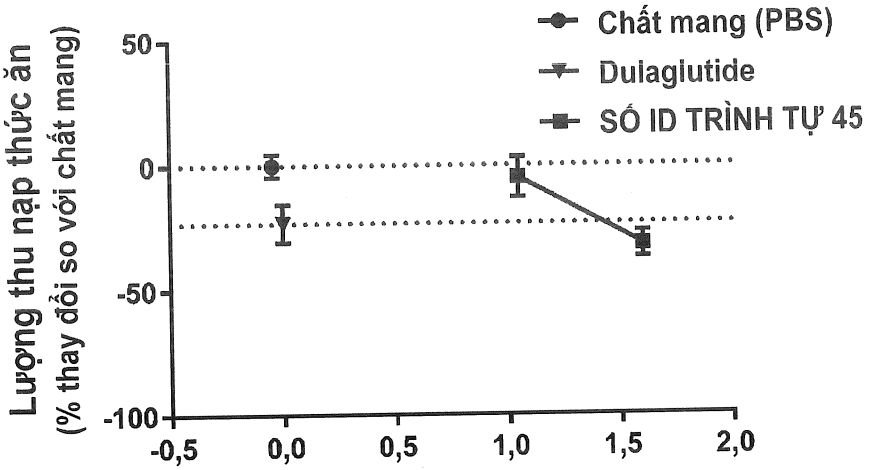
HÌNH 5



Thời gian tiếp xúc/thời gian tiếp xúc dula trung bình và được biến đổi sang đơn vị logarit: GLP-1 hoạt tính (nM)

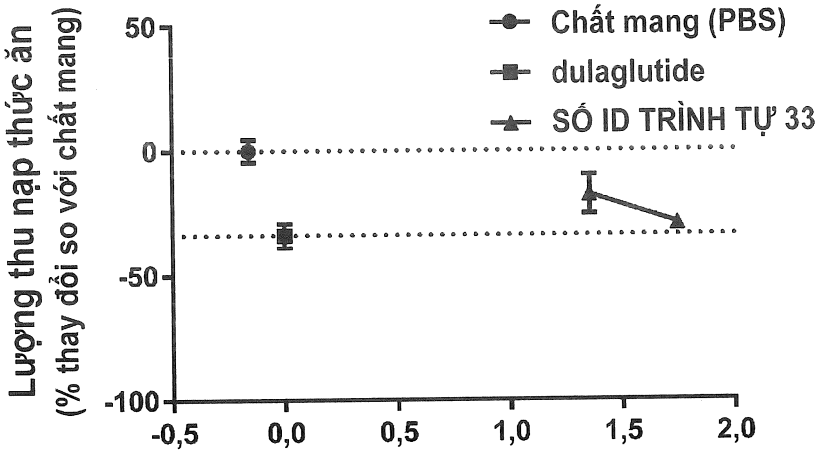
Chất mang chỉ được minh họa cho mục đích tham khảo

HÌNH 6



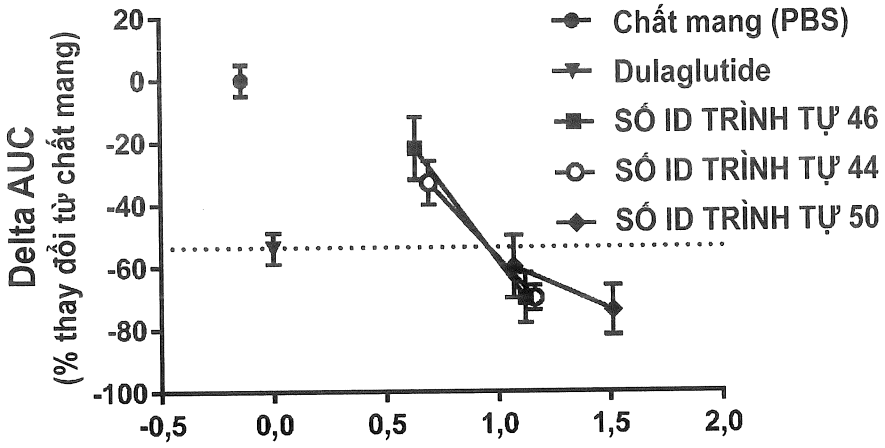
Chất mang chỉ được minh họa cho mục đích tham khảo

HÌNH 7



Chất mang chỉ được minh họa cho mục đích tham khảo

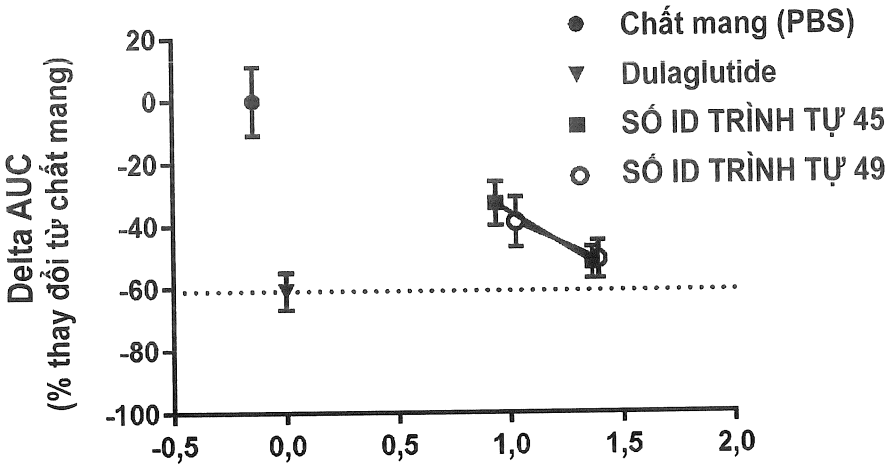
HÌNH 8



Thời gian tiếp xúc/thời gian tiếp xúc dula trung bình và được biến đổi sang đơn vị logarit: GLP-1 hoạt tính (nM)

Chất mang chỉ được minh họa cho mục đích tham khảo

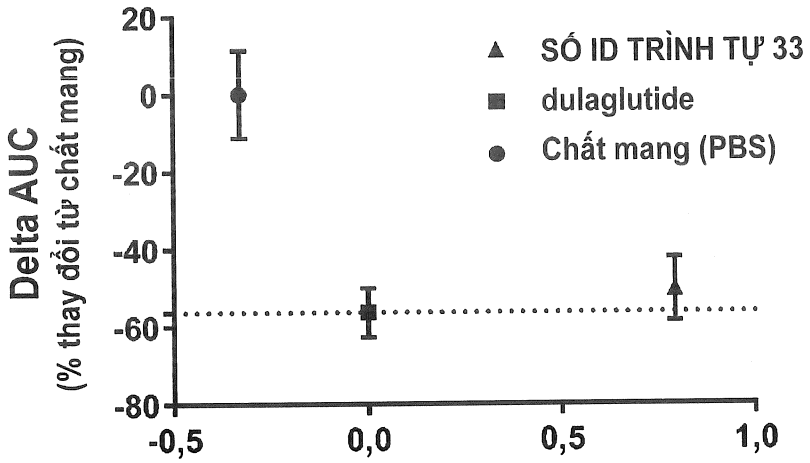
HÌNH 9



Thời gian tiếp xúc / thời gian tiếp xúc dula trung bình và được biến đổi sang đơn vị logarit: GLP-1 hoạt tính (nM)

Chất mang chỉ được minh họa cho mục đích tham khảo

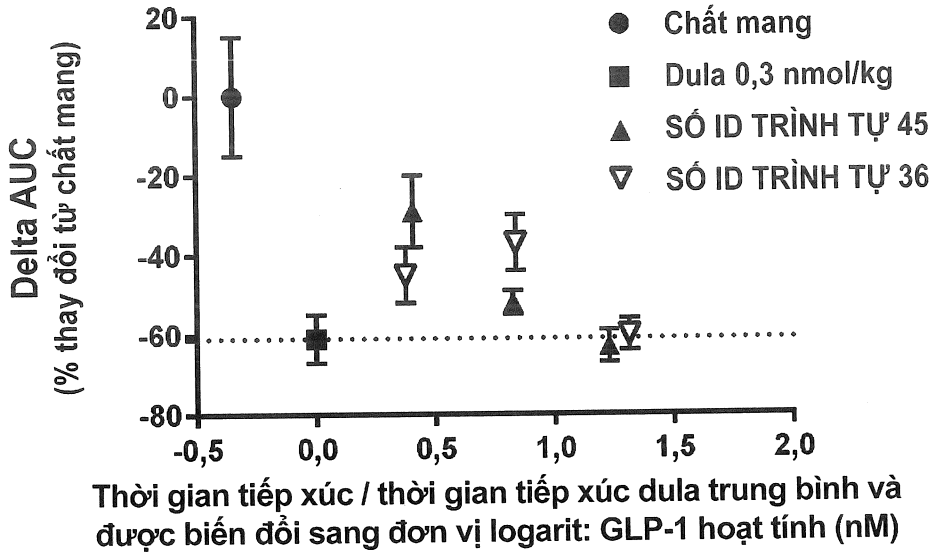
HÌNH 10



Thời gian tiếp xúc / thời gian tiếp xúc dula trung bình và được biến đổi sang đơn vị logarit: GLP-1 hoạt tính (nM)

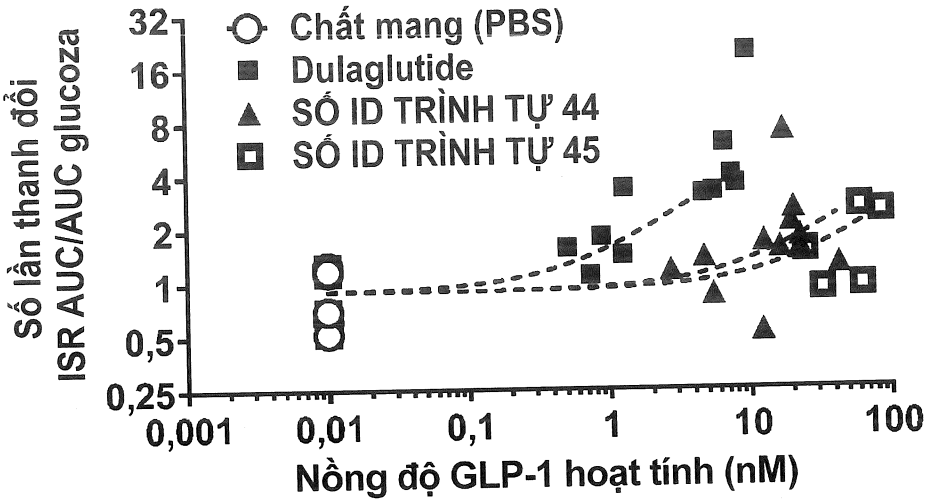
Chất mang chỉ được minh họa cho mục đích tham khảo

HÌNH 11



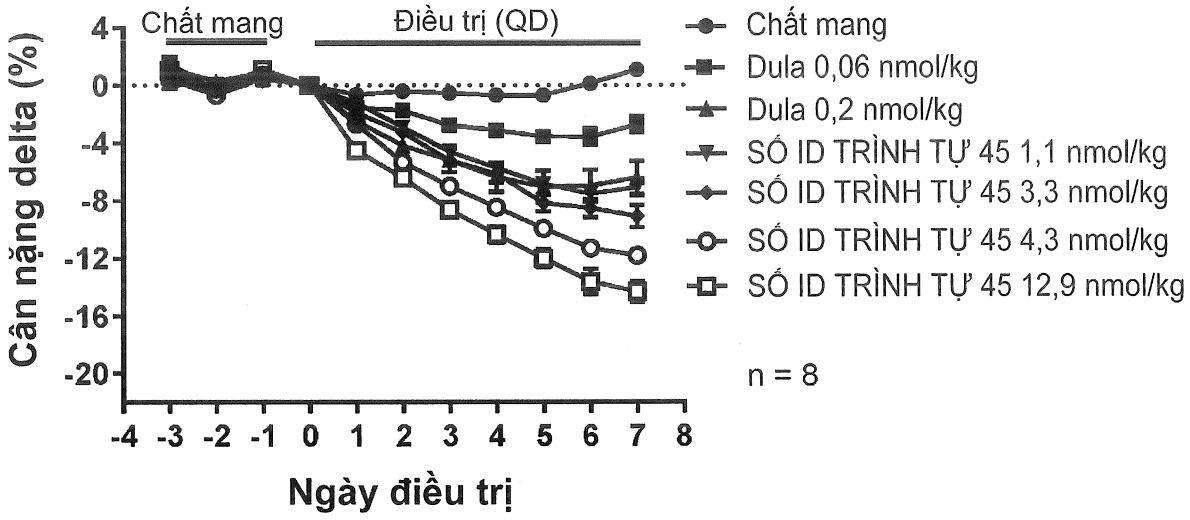
Chất mang chỉ được minh họa cho mục đích tham khảo

HÌNH 12

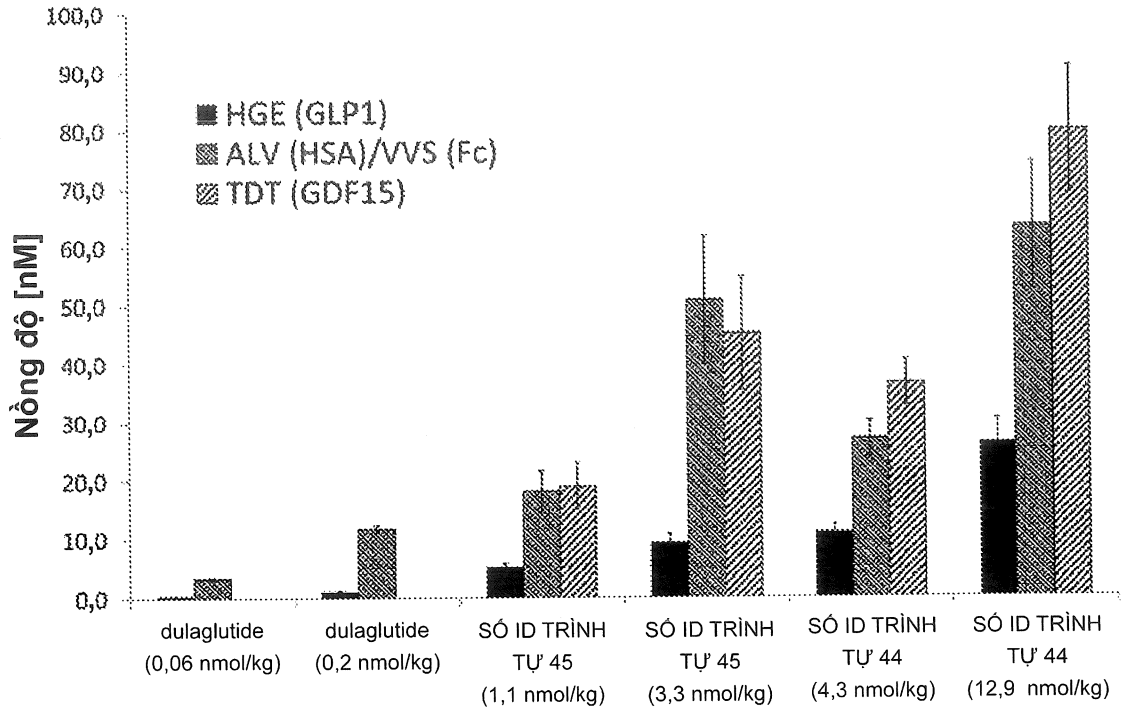


Chất mang chỉ được minh họa cho mục đích tham khảo

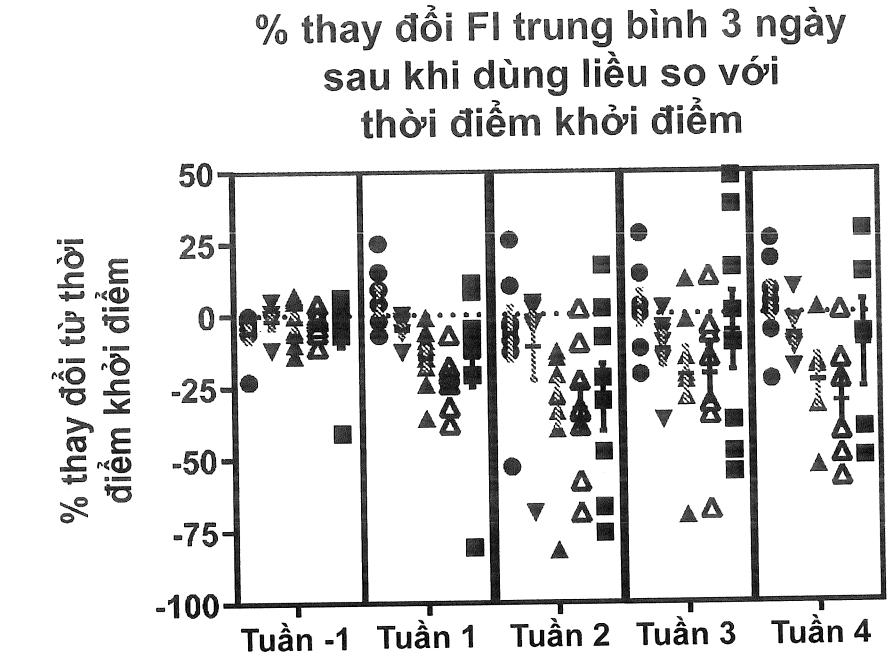
HÌNH 13


Chất mang
Điều trị (QD)
Cân nặng delta (%)
4
0
-4
-8
-12
-16
-20
-4 -3 -2 -1 0 1 2 3 4 5 6 7 8
Ngày điều trị
Chất mang
Dula 0,06 nmol/kg
Dula 0,2 nmol/kg
SỐ ID TRÌNH TỰ 45 1,1 nmol/kg
SỐ ID TRÌNH TỰ 45 3,3 nmol/kg
SỐ ID TRÌNH TỰ 45 4,3 nmol/kg
SỐ ID TRÌNH TỰ 45 12,9 nmol/kg
n = 8

HÌNH 14

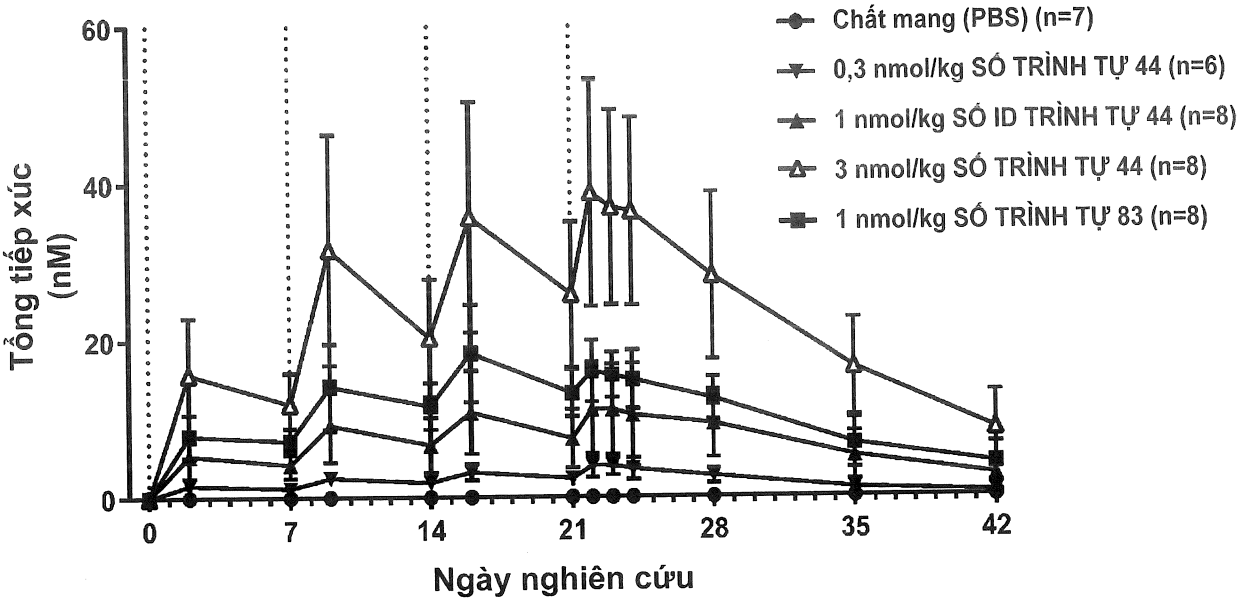

100,0
90,0
80,0
70,0
60,0
50,0
40,0
30,0
20,0
10,0
0,0
Nồng độ [nM]
HGE (GLP1)
ALV (HSA)/VVS (Fc)
TDT (GDF15)
dulaglutide (0,06 nmol/kg)
dulaglutide (0,2 nmol/kg)
SÓ ID TRÌNH TỰ 45 (1,1 nmol/kg)
SÓ ID TRÌNH TỰ 45 (3,3 nmol/kg)
SÓ ID TRÌNH TỰ 44 (4,3 nmol/kg)
SÓ ID TRÌNH TỰ 44 (12,9 nmol/kg)

HÌNH 15

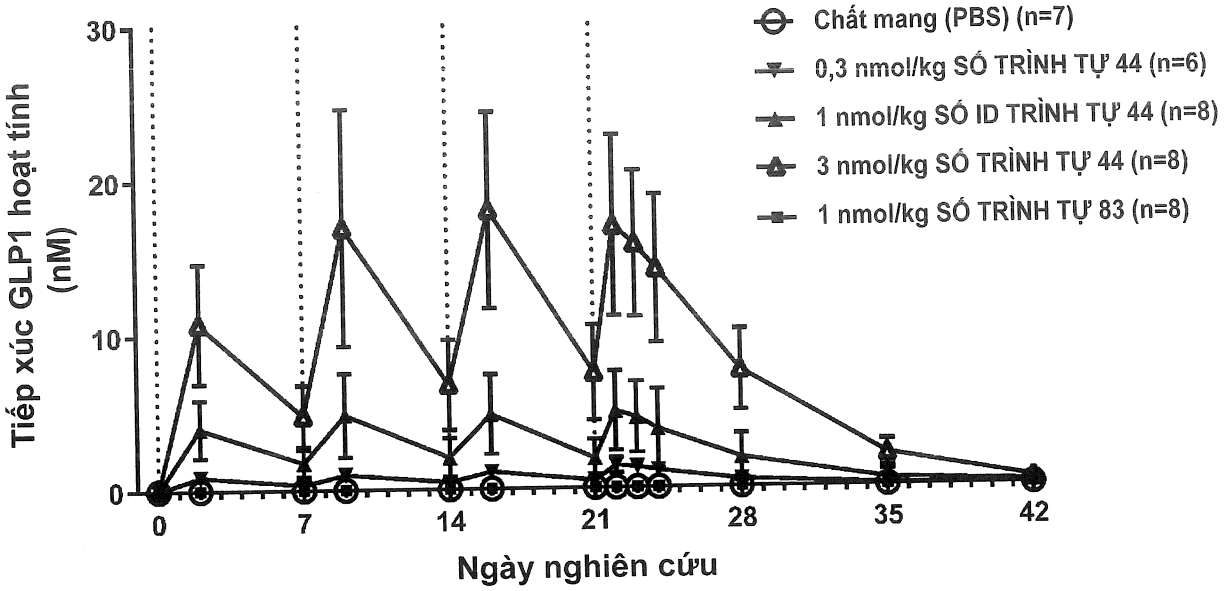


●	Chất mang (PBS)	n=7	7	7	7
▼	0,3 nmol/kg SỐ TRÌNH TỰ 44	n=6	6	5	5
▲	1 nmol/kg SỐ TRÌNH TỰ 44	n=8	8	7	5
△	3 nmol/kg SỐ TRÌNH TỰ 44	n=8	8	7	6
■	1 nmol/kg SỐ TRÌNH TỰ 83	n=8	8	8	5

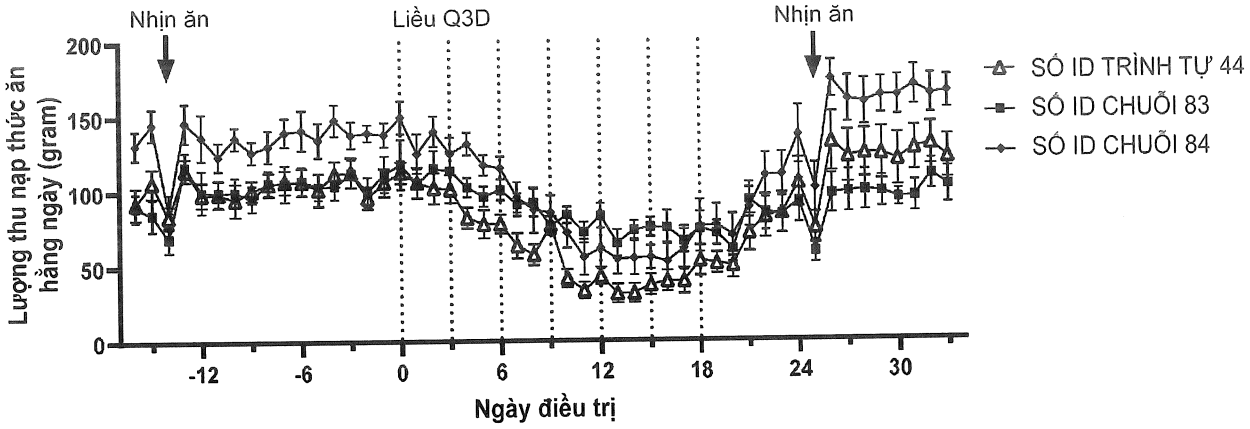
HÌNH 16


Chất mang (PBS) (n=7)
0,3 nmol/kg SÓ TRÌNH TỰ 44 (n=6)
1 nmol/kg SÓ ID TRÌNH TỰ 44 (n=8)
3 nmol/kg SÓ TRÌNH TỰ 44 (n=8)
1 nmol/kg SÓ TRÌNH TỰ 83 (n=8)
Tổng tiếp xúc (nM)
60
40
20
0
0
7
14
21
28
35
42
Ngày nghiên cứu

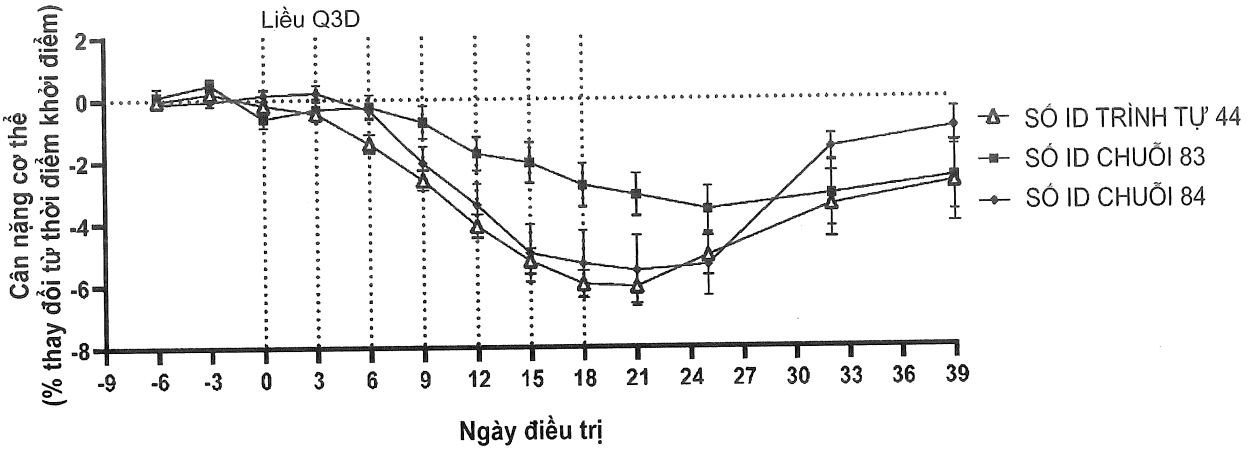
HÌNH 17


Chất mang (PBS) (n=7)
0,3 nmol/kg SỐ TRÌNH TỰ 44 (n=6)
1 nmol/kg SỐ ID TRÌNH TỰ 44 (n=8)
3 nmol/kg SỐ TRÌNH TỰ 44 (n=8)
1 nmol/kg SỐ TRÌNH TỰ 83 (n=8)
Tiếp xúc GLP1 hoạt tính (nM)
30
20
10
0
0
7
14
21
28
35
42
Ngày nghiên cứu

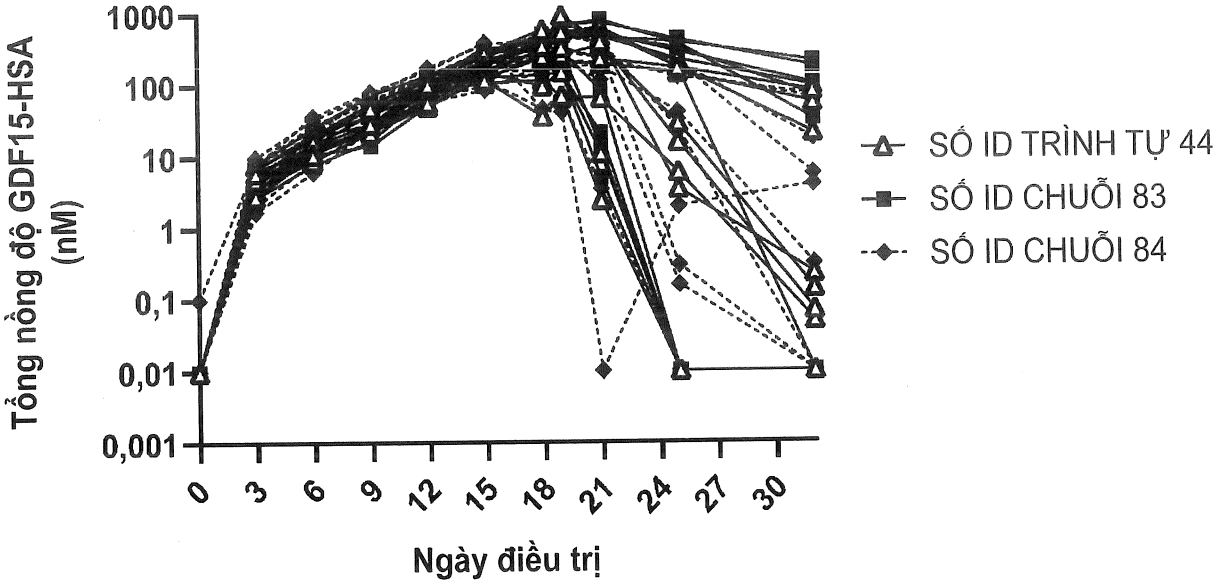
HÌNH 18


Nhịn ăn
Liều Q3D
Nhịn ăn
Lượng thu nạp thức ăn hằng ngày (gram)
200
150
100
50
0
-12
-6
0
6
12
18
24
30
Ngày điều trị
SỐ ID TRÌNH TỰ 44
SỐ ID CHUỖI 83
SỐ ID CHUỖI 84

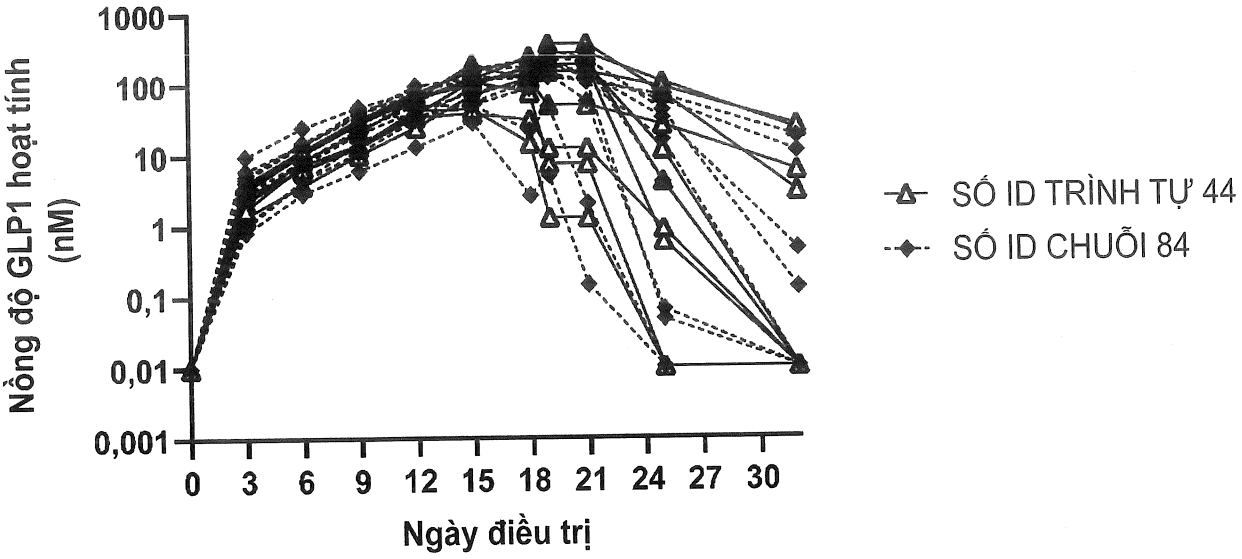
HÌNH 19


Liều Q3D
Cân nặng cơ thể
(% thay đổi từ thời điểm khởi điểm)
2
0
-2
-4
-6
-8
-9
-6
-3
0
3
6
9
12
15
18
21
24
27
30
33
36
39
Ngày điều trị
SỐ ID TRÌNH TỰ 44
SỐ ID CHUỖI 83
SỐ ID CHUỖI 84

HÌNH 20


Tổng nồng độ GDF15-HSA (nM)
1000
100
10
1
0,1
0,01
0,001
0
3
6
9
12
15
18
21
24
27
30
Ngày điều trị
SỐ ID TRÌNH TỰ 44
SỐ ID CHUỖI 83
SỐ ID CHUỖI 84

HÌNH 21


Nồng độ GLP1 hoạt tính (nM)
1000
100
10
1
0,1
0,01
0,001
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Ngày điều trị
SỐ ID TRÌNH TỰ 44
SỐ ID CHUỖI 84

HÌNH 22

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Janssen Pharmaceutica NV

<120> Protein dung hợp yếu tố biệt hóa tăng trưởng 15 (GDF15)-Peptit giống như glucagon 1 (GLP1)và dược phẩm chứa chúng

<130> 688097-887WO

<150> US62/784603
<151> 2018-10-22

<160> 84

<170> Phiên bản sáng chế 3.5

<210> 1
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> (A8S, A30E) GLP-1(7-36)

<400> 1

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg
20 25 30

<210> 2
<211> 30
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> (A8G, G22E, R36G) GLP1(7-36)

<400> 2

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly
20 25 30

<210> 3
<211> 39
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Exendin 4 (1-39)

<400> 3

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser
35

<210> 4
<211> 28

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Exendin 4 (1-28)

<400> 4

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn
20 25

<210> 5
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-1

<400> 5

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
1 5 10

<210> 6
<211> 20
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-2

<400> 6

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro
20

<210> 7
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-3

<400> 7

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
20 25 30

<210> 8
<211> 40
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-4

<400> 8

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
35 40

<210> 9
<211> 50
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-5

<400> 9

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
35 40 45

Ala Pro
50

<210> 10
<211> 24
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-6

<400> 10

Ala Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Gly Ser
20

<210> 11
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-7

<400> 11

Ala Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Gly Ser
1 5 10

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

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-8

<400> 12

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 13
<211> 42
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-9

<400> 13

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
35 40

<210> 14
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-10

<400> 14

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
1 5 10

<210> 15
<211> 42
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-11

<400> 15

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
35 40

<210> 16
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-12

<400> 16

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
1 5 10 15

<210> 17
<211> 20

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-13

<400> 17

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ala
20

<210> 18
<211> 25
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-14

<400> 18

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
20 25

<210> 19
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-15

<400> 19

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
20 25 30

<210> 20
<211> 40
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-16

<400> 20

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
35 40

<210> 21
<211> 20
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-17

<400> 21

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly
20

<210> 22
<211> 25
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-18

<400> 22

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25

<210> 23
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-19

<400> 23

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 24
<211> 25
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-20

<400> 24

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 25
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ nhất 1-21

<400> 25

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 26
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> HSA(C34S)

<400> 26

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

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

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 27
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> GSA(C34S)

<400> 27

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Thr Phe Lys Ala Leu Val Leu Val Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Ala Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Leu Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

405 410 415

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

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Ala Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Thr Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 28
<211> 20
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ hai 2-1

<400> 28

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro
20

<210> 29
<211> 42
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ hai 2-2

<400> 29

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
35 40

<210> 30
<211> 42
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit cầu nối thứ hai 2-3

<400> 30

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
35 40

<210> 31
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Biến thể GDF15 1

<400> 31

Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val
1 5 10 15

Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro
20 25 30

Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe
35 40 45

Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu
50 55 60

Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn
65 70 75 80

Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr
85 90 95

Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105

<210> 32
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> GDF15 WT trưởng thành

<400> 32

Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 33
<211> 768
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 1

<400> 33

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His
50 55 60

Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile
65 70 75 80

Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys
85 90 95

Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu
100 105 110

Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
115 120 125

Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp
130 135 140

Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His
145 150 155 160

Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp
165 170 175

Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys
180 185 190

Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu
195 200 205

Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys
210 215 220

Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu
225 230 235 240

Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala
245 250 255

Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala
260 265 270

Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys
275 280 285

Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp
290 295 300

Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys
305 310 315 320

Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys
325 330 335

Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu
340 345 350

Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys
355 360 365

Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met
370 375 380

Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu
385 390 395 400

Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys
405 410 415

Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe
420 425 430

Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu
435 440 445

Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val
450 455 460

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

465 470 475 480

Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro
485 490 495

Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu
500 505 510

Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val
515 520 525

Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser
530 535 540

Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu
545 550 555 560

Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg
565 570 575

Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro
580 585 590

Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala
595 600 605

Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala
610 615 620

Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
625 630 635 640

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
645 650 655

Ala Pro Ala Pro Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
660 665 670

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
675 680 685

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
690 695 700

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
705 710 715 720

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
725 730 735

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
740 745 750

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
755 760 765

<210> 34
<211> 758
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 2

<400> 34

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp Ala His
35 40 45

Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe
50 55 60

Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro
65 70 75 80

Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys
85 90 95

Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His
100 105 110

Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr
115 120 125

Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn
130 135 140

Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu
145 150 155 160

Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu
165 170 175

Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro
180 185 190

Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala
195 200 205

Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu
210 215 220

Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys
225 230 235 240

Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe
245 250 255

Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu
260 265 270

Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr
275 280 285

Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp
290 295 300

Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu
305 310 315 320

Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala
325 330 335

Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala
340 345 350

Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys
355 360 365

Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro
370 375 380

Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr
385 390 395 400

Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala
405 410 415

Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu
420 425 430

Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe
435 440 445

Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser
450 455 460

Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser
465 470 475 480

Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp
485 490 495

Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr
500 505 510

Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn
515 520 525

Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro
530 535 540

Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr
545 550 555 560

Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu
565 570 575

Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val
580 585 590

Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp

595 600 605

Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser
610 615 620

Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
625 630 635 640

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp His Cys Pro Leu Gly
645 650 655

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
660 665 670

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
675 680 685

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
690 695 700

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
705 710 715 720

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
725 730 735

Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
740 745 750

Lys Asp Cys His Cys Ile
755

<210> 35
<211> 793
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 3

<400> 35

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Ala Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
35 40 45

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
50 55 60

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
65 70 75 80

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
85 90 95

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln

100 105 110

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
115 120 125

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
130 135 140

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
145 150 155 160

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
165 170 175

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
180 185 190

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
195 200 205

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
210 215 220

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
225 230 235 240

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
245 250 255

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
260 265 270

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
275 280 285

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
290 295 300

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
305 310 315 320

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
325 330 335

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
340 345 350

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
355 360 365

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
370 375 380

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
385 390 395 400

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
405 410 415

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
420 425 430

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
435 440 445

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
450 455 460

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
465 470 475 480

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
485 490 495

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
500 505 510

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
515 520 525

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
530 535 540

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
545 550 555 560

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
565 570 575

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
580 585 590

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
595 600 605

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
610 615 620

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
625 630 635 640

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
645 650 655

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
660 665 670

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp His Cys
675 680 685

Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser
690 695 700

Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
705 710 715 720

Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala

725 730 735

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
740 745 750

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
755 760 765

Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
770 775 780

Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
785 790

<210> 36
<211> 783
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 4

<400> 36

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Ala Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
35 40 45

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
50 55 60

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg
65 70 75 80

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

Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu
100 105 110

Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser
115 120 125

Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu
130 135 140

Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys
145 150 155 160

Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys
165 170 175

Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val
180 185 190

Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr

195 200 205

Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu
210 215 220

Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln
225 230 235 240

Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg
245 250 255

Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser
260 265 270

Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg
275 280 285

Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu
290 295 300

Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu
305 310 315 320

Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu
325 330 335

Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro
340 345 350

Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met
355 360 365

Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp
370 375 380

Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu
405 410 415

Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala
420 425 430

Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys
435 440 445

Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu
450 455 460

Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg
465 470 475 480

Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val
485 490 495

Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu
500 505 510

Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn
515 520 525

Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr
530 535 540

Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
545 550 555 560

Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr
565 570 575

Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln
580 585 590

Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
595 600 605

Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe
610 615 620

Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu
625 630 635 640

Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala
645 650 655

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
660 665 670

Pro Ala Pro Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
675 680 685

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
690 695 700

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
705 710 715 720

Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
725 730 735

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
740 745 750

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
755 760 765

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775 780

<210> 37
<211> 773
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 5

<400> 37

```
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1               5                  10                  15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Ala Pro
            20                  25                  30

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
        35                  40                  45

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp Ala His Lys
    50                  55                  60

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
65                  70                  75                  80

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
                85                  90                  95

Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
            100                 105                 110

Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
        115                 120                 125

Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
    130                 135                 140

Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
145                 150                 155                 160
```

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
165 170 175

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
180 185 190

Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
195 200 205

Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
210 215 220

Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
225 230 235 240

Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
245 250 255

Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
260 265 270

Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
275 280 285

Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu
290 295 300

Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu

305 310 315 320

Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
325 330 335

Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
340 345 350

Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
355 360 365

Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
370 375 380

Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
385 390 395 400

Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
405 410 415

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
420 425 430

Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
435 440 445

Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
450 455 460

Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
465 470 475 480

Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
485 490 495

Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
500 505 510

Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
515 520 525

Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
530 535 540

Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
545 550 555 560

Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
565 570 575

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
580 585 590

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
595 600 605

Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
610 615 620

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
625 630 635 640

Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
645 650 655

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp His Cys Pro Leu Gly Pro
660 665 670

Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu
675 680 685

Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met
690 695 700

Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala
705 710 715 720

Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala
725 730 735

Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys
740 745 750

Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys
755 760 765

Asp Cys His Cys Ile
770

<210> 38
<211> 783
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 6

<400> 38

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg
65 70 75 80

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

Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu
100 105 110

Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser
115 120 125

Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu
130 135 140

Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys
145 150 155 160

Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys
165 170 175

Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val
180 185 190

Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr
195 200 205

Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu
210 215 220

Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln
225 230 235 240

Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg
245 250 255

Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser
260 265 270

Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg
275 280 285

Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu
290 295 300

Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu
305 310 315 320

Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu
325 330 335

Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro
340 345 350

Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met
355 360 365

Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp
370 375 380

Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu
405 410 415

Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala

420 425 430

Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys
435 440 445

Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu
450 455 460

Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg
465 470 475 480

Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val
485 490 495

Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu
500 505 510

Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn
515 520 525

Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr
530 535 540

Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
545 550 555 560

Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr
565 570 575

Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln
580 585 590

Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
595 600 605

Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe
610 615 620

Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu
625 630 635 640

Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala
645 650 655

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
660 665 670

Pro Ala Pro Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
675 680 685

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
690 695 700

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
705 710 715 720

Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
725 730 735

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
740 745 750

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
755 760 765

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775 780

<210> 39
<211> 802
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 7

<400> 39

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
35 40 45

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
50 55 60

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
65 70 75 80

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp Ala His Lys Ser Glu Val
85 90 95

Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val
100 105 110

Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His
115 120 125

Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala
130 135 140

Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly
145 150 155 160

Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met
165 170 175

Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu
180 185 190

Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu
195 200 205

Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu
210 215 220

Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala
225 230 235 240

Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu
245 250 255

Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp
260 265 270

Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys
275 280 285

Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala
290 295 300

Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val
305 310 315 320

Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His
325 330 335

Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr
340 345 350

Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys
355 360 365

Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn
370 375 380

```
Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu
385                 390                 395                 400

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

Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val
            420                 425                 430

Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys
        435                 440                 445

Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp
    450                 455                 460

Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn
465                 470                 475                 480

Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu
                485                 490                 495

Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu
            500                 505                 510

Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys
        515                 520                 525

His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val
```

530 535 540

Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp
545 550 555 560

Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys
565 570 575

Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn
580 585 590

Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys
595 600 605

Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His
610 615 620

Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe
625 630 635 640

Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys
645 650 655

Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu
660 665 670

Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
675 680 685

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys
690 695 700

Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala
705 710 715 720

Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly
725 730 735

Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys
740 745 750

Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys
755 760 765

Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr
770 775 780

Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His
785 790 795 800

Cys Ile

<210> 40
<211> 782
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 8

<400> 40

```
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1               5                  10                  15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
            20                  25                  30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
        35                  40                  45

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
    50                  55                  60

Pro Ala Pro Ala Pro Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe
65                  70                  75                  80

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

Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val
            100                 105                 110

Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala
        115                 120                 125

Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys
    130                 135                 140
```

Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys
145 150 155 160

Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp
165 170 175

Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met
180 185 190

Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu
195 200 205

Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu
210 215 220

Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala
225 230 235 240

Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp
245 250 255

Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu
260 265 270

Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu
275 280 285

Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val
290 295 300

Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu
305 310 315 320

Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn
325 330 335

Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu
340 345 350

Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro
355 360 365

Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val
370 375 380

Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu
405 410 415

Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala
420 425 430

Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro
435 440 445

Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe
450 455 460

Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr
465 470 475 480

Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser
485 490 495

Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala
500 505 510

Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln
515 520 525

Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys
530 535 540

Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu
545 550 555 560

Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe
565 570 575

Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile
580 585 590

Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala
595 600 605

Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val

610 615 620

Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu
625 630 635 640

Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro
645 650 655

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
660 665 670

Ala Pro Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His
675 680 685

Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu
690 695 700

Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser
705 710 715 720

Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His
725 730 735

Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser
740 745 750

Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu
755 760 765

Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775 780

<210> 41
<211> 772
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 9

<400> 41

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
35 40 45

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp Ala His Lys Ser
50 55 60

Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala
65 70 75 80

Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu
85 90 95

Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys

100 105 110

Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu
115 120 125

Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly
130 135 140

Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys
145 150 155 160

Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg
165 170 175

Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr
180 185 190

Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe
195 200 205

Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe
210 215 220

Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys
225 230 235 240

Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg
245 250 255

Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala
260 265 270

Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala
275 280 285

Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys
290 295 300

Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala
305 310 315 320

Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu
325 330 335

Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val
340 345 350

Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe
355 360 365

Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val
370 375 380

Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr
385 390 395 400

Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu
405 410 415

Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val
420 425 430

Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys
435 440 445

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn
450 455 460

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro
465 470 475 480

Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys
485 490 495

Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu
500 505 510

Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val
515 520 525

Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg
530 535 540

Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu
545 550 555 560

Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser
565 570 575

Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val
580 585 590

Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp
595 600 605

Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu
610 615 620

Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala
625 630 635 640

Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
645 650 655

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly
660 665 670

Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly
675 680 685

Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys
690 695 700

Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln
705 710 715 720

Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro

725 730 735

Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr
740 745 750

Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp
755 760 765

Cys His Cys Ile
770

<210> 42
<211> 792
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 10

<400> 42

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
50 55 60

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp
65 70 75 80

Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu
85 90 95

Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln
100 105 110

Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe
115 120 125

Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser
130 135 140

Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg
145 150 155 160

Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu
165 170 175

Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro
180 185 190

Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp
195 200 205

Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg

210 215 220

His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr
225 230 235 240

Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys
245 250 255

Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser
260 265 270

Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg
275 280 285

Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys
290 295 300

Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val
305 310 315 320

His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg
325 330 335

Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser
340 345 350

Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys
355 360 365

Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu
370 375 380

Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu
385 390 395 400

Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg
405 410 415

His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr
420 425 430

Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys
435 440 445

Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln
450 455 460

Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr
465 470 475 480

Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln
485 490 495

Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val
500 505 510

Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala
515 520 525

Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu
530 535 540

Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu
545 550 555 560

Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr
565 570 575

Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile
580 585 590

Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu
595 600 605

Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys
610 615 620

Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala
625 630 635 640

Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala
645 650 655

Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
660 665 670

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp His Cys Pro
675 680 685

Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu
690 695 700

Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln
705 710 715 720

Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn
725 730 735

Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr
740 745 750

Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu
755 760 765

Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu
770 775 780

Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
785 790

<210> 43
<211> 777
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 11

<400> 43

```
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1               5                  10                  15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
            20                  25                  30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
        35                  40                  45

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
    50                  55                  60

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
65                  70                  75                  80

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
                85                  90                  95

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
            100                 105                 110

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
        115                 120                 125

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
    130                 135                 140

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
145                 150                 155                 160
```

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
165 170 175

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
180 185 190

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
195 200 205

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
210 215 220

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
225 230 235 240

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
245 250 255

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
260 265 270

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
275 280 285

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
290 295 300

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

305 310 315 320

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
325 330 335

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
340 345 350

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
355 360 365

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
370 375 380

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
385 390 395 400

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
405 410 415

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
420 425 430

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
435 440 445

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
450 455 460

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
465 470 475 480

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
485 490 495

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
500 505 510

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
515 520 525

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
530 535 540

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
545 550 555 560

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
565 570 575

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
580 585 590

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
595 600 605

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
610 615 620

```
Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
625                 630                 635                 640

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
                645                 650                 655

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp His Cys
            660                 665                 670

Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser
        675                 680                 685

Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
    690                 695                 700

Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala
705                 710                 715                 720

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
                725                 730                 735

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
            740                 745                 750

Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
        755                 760                 765

Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
    770                 775
```

<210> 44
<211> 762
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 12

<400> 44

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
35 40 45

Pro Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly
50 55 60

Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr
85 90 95

Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp
100 105 110

Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr
115 120 125

Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu
130 135 140

Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn
145 150 155 160

Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe
165 170 175

His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala
180 185 190

Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys
195 200 205

Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala
210 215 220

Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala
225 230 235 240

Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly
245 250 255

Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe
260 265 270

```
Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr
        275                 280                 285

Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp
    290                 295                 300

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

Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser
                325                 330                 335

His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro
            340                 345                 350

Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr
        355                 360                 365

Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala
    370                 375                 380

Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys
385                 390                 395                 400

Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His
                405                 410                 415

Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu
```

420 425 430

Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly
435 440 445

Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val
450 455 460

Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly
465 470 475 480

Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro
485 490 495

Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu
500 505 510

His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu
515 520 525

Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu
530 535 540

Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala
545 550 555 560

Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr
565 570 575

Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln
580 585 590

Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys
595 600 605

Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu
610 615 620

Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro
625 630 635 640

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp His
645 650 655

Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala
660 665 670

Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu
675 680 685

Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala
690 695 700

Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro
705 710 715 720

Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met
725 730 735

Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp
740 745 750

Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
755 760

<210> 45
<211> 763
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 13

<400> 45

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Ala Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
35 40 45

Ala Pro Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu
50 55 60

Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val
85 90 95

Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys
100 105 110

Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala
115 120 125

Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln
130 135 140

Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro
145 150 155 160

Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala
165 170 175

Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile
180 185 190

Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala
195 200 205

Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys
210 215 220

Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys
225 230 235 240

Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe
245 250 255

Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg
260 265 270

Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu
275 280 285

Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala
290 295 300

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

Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys
325 330 335

Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu
340 345 350

Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn
355 360 365

Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr
370 375 380

Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala
385 390 395 400

Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro
405 410 415

His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu
420 425 430

Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu
435 440 445

Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys
450 455 460

Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu
465 470 475 480

Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met
485 490 495

Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val
500 505 510

Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr
515 520 525

Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp
530 535 540

Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His

545 550 555 560

Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln
565 570 575

Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu
580 585 590

Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys
595 600 605

Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys
610 615 620

Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala
625 630 635 640

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp
645 650 655

His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg
660 665 670

Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg
675 680 685

Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg
690 695 700

Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys
705 710 715 720

Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro
725 730 735

Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr
740 745 750

Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
755 760

<210> 46
<211> 784
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 14

<400> 46

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
35 40 45

Pro Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly

50 55 60

Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr
85 90 95

Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp
100 105 110

Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr
115 120 125

Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu
130 135 140

Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn
145 150 155 160

Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe
165 170 175

His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala
180 185 190

Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys
195 200 205

Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala
210 215 220

Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala
225 230 235 240

Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly
245 250 255

Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe
260 265 270

Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr
275 280 285

Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp
290 295 300

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

Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser
325 330 335

His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro
340 345 350

Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr
355 360 365

Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala
370 375 380

Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys
385 390 395 400

Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His
405 410 415

Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu
420 425 430

Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly
435 440 445

Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val
450 455 460

Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly
465 470 475 480

Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro
485 490 495

Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu
500 505 510

His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu
515 520 525

Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu
530 535 540

Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala
545 550 555 560

Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr
565 570 575

Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln
580 585 590

Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys
595 600 605

Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu
610 615 620

Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ala Gly Gly Gly Gly
625 630 635 640

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
645 650 655

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly
660 665 670

Gly Gly Gly Ala Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg

675 680 685

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
690 695 700

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
705 710 715 720

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
725 730 735

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
740 745 750

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
755 760 765

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775 780

<210> 47
<211> 790
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 15

<400> 47

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His
50 55 60

Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile
65 70 75 80

Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys
85 90 95

Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu
100 105 110

Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
115 120 125

Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp
130 135 140

Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His
145 150 155 160

Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp

165 170 175

Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys
180 185 190

Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu
195 200 205

Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys
210 215 220

Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu
225 230 235 240

Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala
245 250 255

Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala
260 265 270

Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys
275 280 285

Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp
290 295 300

Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys
305 310 315 320

Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys
325 330 335

Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu
340 345 350

Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys
355 360 365

Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met
370 375 380

Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu
385 390 395 400

Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys
405 410 415

Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe
420 425 430

Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu
435 440 445

Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val
450 455 460

Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
465 470 475 480

Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro
485 490 495

Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu
500 505 510

Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val
515 520 525

Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser
530 535 540

Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu
545 550 555 560

Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg
565 570 575

Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro
580 585 590

Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala
595 600 605

Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala
610 615 620

Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
625 630 635 640

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
645 650 655

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
660 665 670

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp His Cys Pro Leu Gly
675 680 685

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
690 695 700

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
705 710 715 720

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
725 730 735

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
740 745 750

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
755 760 765

Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
770 775 780

Lys Asp Cys His Cys Ile

785 790

<210> 48
<211> 785
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 16

<400> 48

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Gly Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu
50 55 60

Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val
85 90 95

Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys
100 105 110

Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala
115 120 125

Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln
130 135 140

Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro
145 150 155 160

Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala
165 170 175

Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile
180 185 190

Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala
195 200 205

Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys
210 215 220

Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys
225 230 235 240

Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe
245 250 255

Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg

260 265 270

Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu
275 280 285

Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala
290 295 300

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

Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys
325 330 335

Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu
340 345 350

Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn
355 360 365

Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr
370 375 380

Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala
385 390 395 400

Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro
405 410 415

His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu
420 425 430

Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu
435 440 445

Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys
450 455 460

Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu
465 470 475 480

Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met
485 490 495

Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val
500 505 510

Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr
515 520 525

Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp
530 535 540

Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His
545 550 555 560

Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln
565 570 575

Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu
580 585 590

Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys
595 600 605

Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys
610 615 620

Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ala Gly Gly Gly
625 630 635 640

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
645 650 655

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
660 665 670

Gly Gly Gly Gly Ala Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys
675 680 685

Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp
690 695 700

Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala
705 710 715 720

Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr
725 730 735

Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val
740 745 750

Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly
755 760 765

Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys
770 775 780

Ile
785

<210> 49
<211> 785
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 17

<400> 49

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly
35 40 45

```
Gly Ala Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu
    50                  55                  60

Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val
                85                  90                  95

Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys
            100                 105                 110

Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala
        115                 120                 125

Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln
    130                 135                 140

Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro
145                 150                 155                 160

Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala
                165                 170                 175

Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile
            180                 185                 190

Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala
        195                 200                 205
```

Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys
210 215 220

Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys
225 230 235 240

Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe
245 250 255

Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg
260 265 270

Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu
275 280 285

Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala
290 295 300

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

Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys
325 330 335

Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu
340 345 350

Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn

355 360 365

Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr
370 375 380

Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala
385 390 395 400

Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro
405 410 415

His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu
420 425 430

Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu
435 440 445

Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys
450 455 460

Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu
465 470 475 480

Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met
485 490 495

Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val
500 505 510

Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr
515 520 525

Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp
530 535 540

Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His
545 550 555 560

Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln
565 570 575

Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu
580 585 590

Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys
595 600 605

Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys
610 615 620

Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ala Gly Gly Gly
625 630 635 640

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
645 650 655

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
660 665 670

Gly Gly Gly Gly Ala Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys
675 680 685

Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp
690 695 700

Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala
705 710 715 720

Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr
725 730 735

Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val
740 745 750

Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly
755 760 765

Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys
770 775 780

Ile
785

<210> 50
<211> 790
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 18

<400> 50

```
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1               5                  10                  15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
            20                  25                  30

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly
        35                  40                  45

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His
    50                  55                  60

Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile
65                  70                  75                  80

Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys
                85                  90                  95

Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu
            100                 105                 110

Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
        115                 120                 125

Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp
    130                 135                 140
```

```
Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His
145                 150                 155                 160

Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp
                165                 170                 175

Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys
            180                 185                 190

Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu
        195                 200                 205

Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys
    210                 215                 220

Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu
225                 230                 235                 240

Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala
                245                 250                 255

Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala
            260                 265                 270

Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp
    290                 295                 300
```

Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys
305 310 315 320

Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys
325 330 335

Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu
340 345 350

Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys
355 360 365

Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met
370 375 380

Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu
385 390 395 400

Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys
405 410 415

Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe
420 425 430

Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu
435 440 445

Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val

450 455 460

Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
465 470 475 480

Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro
485 490 495

Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu
500 505 510

Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val
515 520 525

Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser
530 535 540

Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu
545 550 555 560

Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg
565 570 575

Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro
580 585 590

Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala
595 600 605

Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala
610 615 620

Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
625 630 635 640

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly
645 650 655

Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala
660 665 670

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp His Cys Pro Leu Gly
675 680 685

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
690 695 700

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
705 710 715 720

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
725 730 735

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
740 745 750

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
755 760 765

Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
770 775 780

Lys Asp Cys His Cys Ile
785 790

<210> 51
<211> 807
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 19

<400> 51

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Ala
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly
35 40 45

Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly
50 55 60

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
65 70 75 80

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

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val
100 105 110

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
115 120 125

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
130 135 140

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
145 150 155 160

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
165 170 175

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
180 185 190

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
195 200 205

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
210 215 220

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
225 230 235 240

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
245 250 255

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
260 265 270

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
275 280 285

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser
290 295 300

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly
305 310 315 320

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
325 330 335

Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
340 345 350

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
355 360 365

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
370 375 380

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
385 390 395 400

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
405 410 415

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
420 425 430

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
435 440 445

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
450 455 460

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
465 470 475 480

Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
485 490 495

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
500 505 510

Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
515 520 525

Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
530 535 540

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe

545 550 555 560

Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
565 570 575

Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
580 585 590

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
595 600 605

Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
610 615 620

Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
625 630 635 640

Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
645 650 655

Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
660 665 670

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu
690 695 700

Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu
705 710 715 720

Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val
725 730 735

Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met
740 745 750

His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val
755 760 765

Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile
770 775 780

Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu
785 790 795 800

Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
805

<210> 52
<211> 786
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 20

<400> 52

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu

```
1               5                   10                  15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
            20                  25                  30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly
        35                  40                  45

Gly Gly Ala Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
    50                  55                  60

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
65                  70                  75                  80

Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
                85                  90                  95

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
            100                 105                 110

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
        115                 120                 125

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
    130                 135                 140

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
145                 150                 155                 160
```

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
165 170 175

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
180 185 190

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
195 200 205

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
210 215 220

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
225 230 235 240

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
245 250 255

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
260 265 270

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
275 280 285

Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
290 295 300

Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
305 310 315 320

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
325 330 335

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
340 345 350

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
355 360 365

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
370 375 380

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
385 390 395 400

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

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
420 425 430

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
435 440 445

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
450 455 460

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
465 470 475 480

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
485 490 495

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
500 505 510

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
515 520 525

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
530 535 540

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
545 550 555 560

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
565 570 575

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
580 585 590

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
595 600 605

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
610 615 620

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly

625 630 635 640

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
645 650 655

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
660 665 670

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys
675 680 685

Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala
690 695 700

Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly
705 710 715 720

Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys
725 730 735

Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys
740 745 750

Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr
755 760 765

Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His
770 775 780

Cys Ile
785

<210> 53
<211> 795
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 21

<400> 53

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp Ala His Lys
50 55 60

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
65 70 75 80

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
85 90 95

Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr

100 105 110

Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
115 120 125

Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
130 135 140

Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
145 150 155 160

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
165 170 175

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
180 185 190

Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
195 200 205

Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
210 215 220

Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
225 230 235 240

Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
245 250 255

Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
260 265 270

Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
275 280 285

Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu
290 295 300

Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu
305 310 315 320

Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
325 330 335

Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
340 345 350

Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
355 360 365

Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
370 375 380

Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
385 390 395 400

Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
405 410 415

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
420 425 430

Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
435 440 445

Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
450 455 460

Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
465 470 475 480

Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
485 490 495

Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
500 505 510

Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
515 520 525

Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
530 535 540

Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
545 550 555 560

Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
565 570 575

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
580 585 590

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
595 600 605

Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
610 615 620

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
625 630 635 640

Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
645 650 655

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
660 665 670

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
675 680 685

His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg
690 695 700

Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg
705 710 715 720

Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg

725 730 735

Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys
740 745 750

Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro
755 760 765

Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr
770 775 780

Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
785 790 795

<210> 54
<211> 790
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 22

<400> 54

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His
50 55 60

Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile
65 70 75 80

Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys
85 90 95

Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu
100 105 110

Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
115 120 125

Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp
130 135 140

Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His
145 150 155 160

Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp
165 170 175

Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys
180 185 190

Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu

195 200 205

Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys
210 215 220

Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu
225 230 235 240

Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala
245 250 255

Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala
260 265 270

Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys
275 280 285

Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp
290 295 300

Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys
305 310 315 320

Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys
325 330 335

Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu
340 345 350

Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys
355 360 365

Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met
370 375 380

Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu
385 390 395 400

Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys
405 410 415

Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe
420 425 430

Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu
435 440 445

Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val
450 455 460

Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
465 470 475 480

Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro
485 490 495

Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu
500 505 510

Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val
515 520 525

Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser
530 535 540

Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu
545 550 555 560

Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg
565 570 575

Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro
580 585 590

Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala
595 600 605

Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala
610 615 620

Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
625 630 635 640

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
645 650 655

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
660 665 670

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly
675 680 685

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
690 695 700

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
705 710 715 720

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
725 730 735

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
740 745 750

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
755 760 765

Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
770 775 780

Lys Asp Cys His Cys Ile
785 790

<210> 55
<211> 795
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 23

<400> 55

```
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1               5                  10                  15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
            20                  25                  30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        35                  40                  45

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys
    50                  55                  60

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
65                  70                  75                  80

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
                85                  90                  95

Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
            100                 105                 110

Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
        115                 120                 125

Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
    130                 135                 140
```

Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
145 150 155 160

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
165 170 175

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
180 185 190

Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
195 200 205

Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
210 215 220

Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
225 230 235 240

Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
245 250 255

Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
260 265 270

Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
275 280 285

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

290 295 300

Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu
305 310 315 320

Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
325 330 335

Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
340 345 350

Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
355 360 365

Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
370 375 380

Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
385 390 395 400

Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
405 410 415

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
420 425 430

Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
435 440 445

Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
450 455 460

Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
465 470 475 480

Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
485 490 495

Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
500 505 510

Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
515 520 525

Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
530 535 540

Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
545 550 555 560

Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
565 570 575

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
580 585 590

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
595 600 605

```
Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
    610                 615                 620

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
625                 630                 635                 640

Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
                645                 650                 655

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            660                 665                 670

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
        675                 680                 685

His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg
    690                 695                 700

Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg
705                 710                 715                 720

Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg
                725                 730                 735

Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys
            740                 745                 750

Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro
        755                 760                 765
```

Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr
770 775 780

Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
785 790 795

<210> 56
<211> 790
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 24

<400> 56

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His
50 55 60

Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile
65 70 75 80

Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys
85 90 95

Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu
100 105 110

Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys
115 120 125

Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp
130 135 140

Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His
145 150 155 160

Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp
165 170 175

Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys
180 185 190

Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu
195 200 205

Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys
210 215 220

Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu
225 230 235 240

Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala
245 250 255

Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala
260 265 270

Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys
275 280 285

Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp
290 295 300

Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys
305 310 315 320

Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys
325 330 335

Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu
340 345 350

Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys
355 360 365

Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met
370 375 380

Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu

385 390 395 400

Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys
405 410 415

Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe
420 425 430

Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu
435 440 445

Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val
450 455 460

Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu
465 470 475 480

Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro
485 490 495

Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu
500 505 510

Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val
515 520 525

Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser
530 535 540

Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu
545 550 555 560

Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg
565 570 575

Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro
580 585 590

Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala
595 600 605

Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala
610 615 620

Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
625 630 635 640

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
645 650 655

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
660 665 670

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly
675 680 685

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
690 695 700

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
705 710 715 720

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
725 730 735

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
740 745 750

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
755 760 765

Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
770 775 780

Lys Asp Cys His Cys Ile
785 790

<210> 57
<211> 789
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 25

<400> 57

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Ala Ser
20 25 30

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
35 40 45

Ala Pro Ala Pro Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg
50 55 60

Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala
65 70 75 80

Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu
85 90 95

Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser
100 105 110

Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu
115 120 125

Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys
130 135 140

Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys
145 150 155 160

Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val
165 170 175

Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr
180 185 190

Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu
195 200 205

Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln
210 215 220

Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg
225 230 235 240

Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser
245 250 255

Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg
260 265 270

Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu
275 280 285

Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu
290 295 300

Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu
305 310 315 320

Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro
325 330 335

Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met
340 345 350

Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp
355 360 365

Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe
370 375 380

Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu
385 390 395 400

Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala
405 410 415

Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys
420 425 430

Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu
435 440 445

Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg
450 455 460

Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val
465 470 475 480

Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu

485 490 495

Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn
500 505 510

Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr
515 520 525

Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
530 535 540

Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr
545 550 555 560

Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln
565 570 575

Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
580 585 590

Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe
595 600 605

Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu
610 615 620

Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly
625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
645 650 655

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
660 665 670

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro
675 680 685

Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu
690 695 700

Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met
705 710 715 720

Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala
725 730 735

Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala
740 745 750

Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys
755 760 765

Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys
770 775 780

Asp Cys His Cys Ile
785

<210> 58
<211> 807
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 26

<400> 58

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Ala Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
35 40 45

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
65 70 75 80

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

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val
100 105 110

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
115 120 125

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
130 135 140

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
145 150 155 160

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
165 170 175

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
180 185 190

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
195 200 205

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
210 215 220

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
225 230 235 240

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
245 250 255

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
260 265 270

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
275 280 285

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser
290 295 300

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly
305 310 315 320

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
325 330 335

Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
340 345 350

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
355 360 365

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
370 375 380

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
385 390 395 400

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
405 410 415

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
420 425 430

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
435 440 445

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
450 455 460

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
465 470 475 480

Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
485 490 495

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
500 505 510

Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
515 520 525

Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
530 535 540

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
545 550 555 560

Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
565 570 575

Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu

580 585 590

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
595 600 605

Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
610 615 620

Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
625 630 635 640

Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
645 650 655

Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
660 665 670

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
675 680 685

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu
690 695 700

Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu
705 710 715 720

Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val
725 730 735

Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met
740 745 750

His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val
755 760 765

Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile
770 775 780

Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu
785 790 795 800

Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
805

<210> 59
<211> 816
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 27

<400> 59

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80

Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly
85 90 95

Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu
100 105 110

Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr
115 120 125

Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp
130 135 140

Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr
145 150 155 160

Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu
165 170 175

Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn
180 185 190

Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe
195 200 205

His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala
210 215 220

Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys
225 230 235 240

Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala
245 250 255

Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala
260 265 270

Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly
275 280 285

Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe
290 295 300

Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr
305 310 315 320

Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp
325 330 335

Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile
340 345 350

Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser
355 360 365

His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro
370 375 380

Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr
385 390 395 400

Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala
405 410 415

Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys
420 425 430

Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His
435 440 445

Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu
450 455 460

Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly
465 470 475 480

Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val
485 490 495

Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly
500 505 510

Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro
515 520 525

Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu
530 535 540

His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu
545 550 555 560

Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu
565 570 575

Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala
580 585 590

Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr
595 600 605

Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln
610 615 620

Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys
625 630 635 640

Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu
645 650 655

Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly

660 665 670

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
675 680 685

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
690 695 700

Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
705 710 715 720

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
725 730 735

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
740 745 750

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
755 760 765

Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
770 775 780

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
785 790 795 800

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
805 810 815

<210> 60
<211> 798
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 28

<400> 60

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ala Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
35 40 45

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Gly Ser Asp
50 55 60

Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu
65 70 75 80

Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln
85 90 95

Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe
100 105 110

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

115 120 125

Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg
130 135 140

Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu
145 150 155 160

Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro
165 170 175

Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp
180 185 190

Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg
195 200 205

His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr
210 215 220

Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys
225 230 235 240

Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser
245 250 255

Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg
260 265 270

Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys
275 280 285

Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val
290 295 300

His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg
305 310 315 320

Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser
325 330 335

Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys
340 345 350

Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu
355 360 365

Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu
370 375 380

Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg
385 390 395 400

His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr
405 410 415

Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys
420 425 430

Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln
435 440 445

Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr
450 455 460

Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln
465 470 475 480

Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val
485 490 495

Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala
500 505 510

Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu
515 520 525

Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu
530 535 540

Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr
545 550 555 560

Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile
565 570 575

Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu
580 585 590

Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys
595 600 605

Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala
610 615 620

Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala
625 630 635 640

Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
645 650 655

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
660 665 670

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
675 680 685

Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His
690 695 700

Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu
705 710 715 720

Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser
725 730 735

Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His

740 745 750

Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser
755 760 765

Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu
770 775 780

Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
785 790 795

<210> 61
<211> 789
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 29

<400> 61

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Ala Ser
20 25 30

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
35 40 45

Ala Pro Ala Pro Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg
50 55 60

Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala
65 70 75 80

Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu
85 90 95

Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser
100 105 110

Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu
115 120 125

Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys
130 135 140

Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys
145 150 155 160

Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val
165 170 175

Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr
180 185 190

Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu
195 200 205

Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln

210 215 220

Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg
225 230 235 240

Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser
245 250 255

Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg
260 265 270

Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu
275 280 285

Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu
290 295 300

Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu
305 310 315 320

Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro
325 330 335

Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met
340 345 350

Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp
355 360 365

```
Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe
    370                 375                 380

Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu
385                 390                 395                 400

Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala
                405                 410                 415

Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys
            420                 425                 430

Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu
        435                 440                 445

Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg
    450                 455                 460

Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val
465                 470                 475                 480

Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu
                485                 490                 495

Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn
            500                 505                 510

Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr
        515                 520                 525
```

Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
530 535 540

Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr
545 550 555 560

Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln
565 570 575

Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
580 585 590

Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe
595 600 605

Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu
610 615 620

Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly
625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
645 650 655

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
660 665 670

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro
675 680 685

Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu
690 695 700

Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met
705 710 715 720

Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala
725 730 735

Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala
740 745 750

Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys
755 760 765

Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys
770 775 780

Asp Cys His Cys Ile
785

<210> 62
<211> 807
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 30

<400> 62

```
His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1               5                  10                  15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Ala Ser
            20                  25                  30

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        35                  40                  45

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    50                  55                  60

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
65                  70                  75                  80

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

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val
            100                 105                 110

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
        115                 120                 125

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
    130                 135                 140

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
145                 150                 155                 160
```

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
165 170 175

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
180 185 190

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
195 200 205

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
210 215 220

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
225 230 235 240

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
245 250 255

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
260 265 270

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
275 280 285

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser
290 295 300

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly

305 310 315 320

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
325 330 335

Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
340 345 350

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
355 360 365

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
370 375 380

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
385 390 395 400

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
405 410 415

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
420 425 430

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
435 440 445

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
450 455 460

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
465 470 475 480

Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
485 490 495

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
500 505 510

Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
515 520 525

Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
530 535 540

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
545 550 555 560

Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
565 570 575

Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
580 585 590

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
595 600 605

Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
610 615 620

```
Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
625                 630                 635                 640

Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
                645                 650                 655

Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
            660                 665                 670

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        675                 680                 685

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu
    690                 695                 700

Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu
705                 710                 715                 720

Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val
                725                 730                 735

Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met
            740                 745                 750

His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val
        755                 760                 765

Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile
    770                 775                 780
```

Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu
785 790 795 800

Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
805

<210> 63
<211> 780
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 31

<400> 63

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His
35 40 45

Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe
50 55 60

Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro
65 70 75 80

Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys
85 90 95

Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His
100 105 110

Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr
115 120 125

Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn
130 135 140

Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu
145 150 155 160

Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu
165 170 175

Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro
180 185 190

Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala
195 200 205

Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu
210 215 220

Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys
225 230 235 240

Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe
245 250 255

Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu
260 265 270

Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr
275 280 285

Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp
290 295 300

Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu
305 310 315 320

Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala
325 330 335

Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala
340 345 350

Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys
355 360 365

Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro
370 375 380

Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr

385 390 395 400

Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala
405 410 415

Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu
420 425 430

Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe
435 440 445

Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser
450 455 460

Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser
465 470 475 480

Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp
485 490 495

Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr
500 505 510

Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn
515 520 525

Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro
530 535 540

Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr
545 550 555 560

Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu
565 570 575

Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val
580 585 590

Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp
595 600 605

Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser
610 615 620

Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
625 630 635 640

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
645 650 655

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
660 665 670

Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val
675 680 685

Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro
690 695 700

Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe
705 710 715 720

Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu
725 730 735

Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn
740 745 750

Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr
755 760 765

Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775 780

<210> 64
<211> 789
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 32

<400> 64

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg
50 55 60

Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala
65 70 75 80

Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu
85 90 95

Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser
100 105 110

Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu
115 120 125

Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys
130 135 140

Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys
145 150 155 160

Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val
165 170 175

Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr
180 185 190

Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu
195 200 205

Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln
210 215 220

Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg
225 230 235 240

Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser
245 250 255

Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg
260 265 270

Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu
275 280 285

Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu
290 295 300

Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu
305 310 315 320

Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro
325 330 335

Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met
340 345 350

Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp
355 360 365

Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe
370 375 380

Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu
385 390 395 400

Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala
405 410 415

Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys
420 425 430

Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu
435 440 445

Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg
450 455 460

Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val
465 470 475 480

Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu
485 490 495

Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn

500 505 510

Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr
515 520 525

Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
530 535 540

Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr
545 550 555 560

Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln
565 570 575

Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
580 585 590

Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe
595 600 605

Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu
610 615 620

Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly
625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
645 650 655

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
660 665 670

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro
675 680 685

Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu
690 695 700

Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met
705 710 715 720

Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala
725 730 735

Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala
740 745 750

Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys
755 760 765

Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys
770 775 780

Asp Cys His Cys Ile
785

<210> 65
<211> 777
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 33

<400> 65

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Ala Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu
35 40 45

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

Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp
65 70 75 80

His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val
85 90 95

Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe
100 105 110

Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu
115 120 125

Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe
130 135 140

Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro
145 150 155 160

Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe
165 170 175

Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr
180 185 190

Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr
195 200 205

Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu
210 215 220

Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu
225 230 235 240

Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp
245 250 255

Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu
260 265 270

Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys
275 280 285

His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys
290 295 300

Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys
305 310 315 320

Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu
325 330 335

Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val
340 345 350

Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe
355 360 365

Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser
370 375 380

Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu
385 390 395 400

Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe
405 410 415

Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln
420 425 430

Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala
435 440 445

```
Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr
    450                 455                 460

Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys
465                 470                 475                 480

Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser
                485                 490                 495

Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser
            500                 505                 510

Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro
        515                 520                 525

Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe
    530                 535                 540

Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu
545                 550                 555                 560

Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys
                565                 570                 575

His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp
            580                 585                 590

Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr
```

595 600 605

Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala
610 615 620

Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
625 630 635 640

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
645 650 655

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys
660 665 670

Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser
675 680 685

Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
690 695 700

Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala
705 710 715 720

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
725 730 735

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
740 745 750

Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
755 760 765

Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775

<210> 66
<211> 779
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 34

<400> 66

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Ala Ser
20 25 30

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Gly Ser Asp Ala His Lys
35 40 45

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
50 55 60

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
65 70 75 80

Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr

85 90 95

Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
100 105 110

Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
115 120 125

Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
130 135 140

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
145 150 155 160

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
165 170 175

Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
180 185 190

Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
195 200 205

Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
210 215 220

Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
225 230 235 240

Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
245 250 255

Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
260 265 270

Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu
275 280 285

Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu
290 295 300

Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
305 310 315 320

Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
325 330 335

Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
340 345 350

Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
355 360 365

Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
370 375 380

Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
385 390 395 400

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
405 410 415

Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
420 425 430

Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
435 440 445

Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
450 455 460

Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
465 470 475 480

Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
485 490 495

Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
500 505 510

Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
515 520 525

Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
530 535 540

Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
545 550 555 560

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
565 570 575

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
580 585 590

Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
595 600 605

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
610 615 620

Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
645 650 655

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
660 665 670

His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg
675 680 685

Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg
690 695 700

Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg

705 710 715 720

Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys
725 730 735

Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro
740 745 750

Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr
755 760 765

Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775

<210> 67
<211> 786
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 35

<400> 67

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
35 40 45

```
Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
    50                  55                  60

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
65                  70                  75                  80

Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
                85                  90                  95

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
            100                 105                 110

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
        115                 120                 125

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
    130                 135                 140

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
145                 150                 155                 160

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
                165                 170                 175

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
            180                 185                 190

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
```

195 200 205

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
210 215 220

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
225 230 235 240

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
245 250 255

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
260 265 270

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
275 280 285

Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
290 295 300

Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
305 310 315 320

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
325 330 335

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
340 345 350

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
355 360 365

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
370 375 380

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
385 390 395 400

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

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
420 425 430

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
435 440 445

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
450 455 460

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
465 470 475 480

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
485 490 495

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
500 505 510

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
515 520 525

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
530 535 540

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
545 550 555 560

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
565 570 575

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
580 585 590

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
595 600 605

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
610 615 620

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly
625 630 635 640

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
645 650 655

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
660 665 670

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys
675 680 685

Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala
690 695 700

Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly
705 710 715 720

Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys
725 730 735

Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys
740 745 750

Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr
755 760 765

Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His
770 775 780

Cys Ile
785

<210> 68
<211> 788
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 36

<400> 68

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ala Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
35 40 45

Pro Ala Pro Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe
50 55 60

Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe
65 70 75 80

Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val
85 90 95

Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala
100 105 110

Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys
115 120 125

Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys
130 135 140

Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp
145 150 155 160

Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met
165 170 175

Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu
180 185 190

Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu
195 200 205

Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala
210 215 220

Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp
225 230 235 240

Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu
245 250 255

Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu
260 265 270

Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val
275 280 285

Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu

290 295 300

Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn
305 310 315 320

Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu
325 330 335

Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro
340 345 350

Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val
355 360 365

Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu
370 375 380

Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu
385 390 395 400

Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala
405 410 415

Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro
420 425 430

Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe
435 440 445

```
Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr
    450                 455                 460

Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser
465                 470                 475                 480

Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala
                485                 490                 495

Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln
            500                 505                 510

Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys
        515                 520                 525

Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu
    530                 535                 540

Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe
545                 550                 555                 560

Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile
                565                 570                 575

Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala
            580                 585                 590

Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val
        595                 600                 605
```

Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu
610 615 620

Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser
625 630 635 640

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
645 650 655

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
660 665 670

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly
675 680 685

Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly
690 695 700

Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys
705 710 715 720

Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln
725 730 735

Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro
740 745 750

Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr
755 760 765

Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp
770 775 780

Cys His Cys Ile
785

<210> 69
<211> 777
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 37

<400> 69

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Ala Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu
35 40 45

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

Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp
65 70 75 80

His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val
85 90 95

Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe
100 105 110

Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu
115 120 125

Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe
130 135 140

Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro
145 150 155 160

Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe
165 170 175

Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr
180 185 190

Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr
195 200 205

Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu
210 215 220

Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu
225 230 235 240

Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp
245 250 255

Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu
260 265 270

Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys
275 280 285

His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys
290 295 300

Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys
305 310 315 320

Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu
325 330 335

Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val
340 345 350

Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe
355 360 365

Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser
370 375 380

Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu

385 390 395 400

Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe
405 410 415

Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln
420 425 430

Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala
435 440 445

Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr
450 455 460

Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys
465 470 475 480

Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser
485 490 495

Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser
500 505 510

Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro
515 520 525

Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe
530 535 540

```
Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu
545                 550                 555                 560

Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys
                565                 570                 575

His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp
            580                 585                 590

Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr
        595                 600                 605

Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala
    610                 615                 620

Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
625                 630                 635                 640

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                645                 650                 655

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His Cys
            660                 665                 670

Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser
        675                 680                 685

Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
    690                 695                 700
```

```
Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala
705                 710                 715                 720

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
                725                 730                 735

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
            740                 745                 750

Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
        755                 760                 765

Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
    770                 775
```

<210> 70
<211> 779
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 38

<400> 70

```
His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1               5                   10                  15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Ala Ser
            20                  25                  30
```

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Gly Ser Asp Ala His Lys
35 40 45

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
50 55 60

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
65 70 75 80

Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
85 90 95

Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
100 105 110

Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
115 120 125

Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
130 135 140

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
145 150 155 160

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
165 170 175

Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
180 185 190

```
Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
        195                 200                 205

Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
    210                 215                 220

Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln
225                 230                 235                 240

Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
                245                 250                 255

Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
            260                 265                 270

Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu
        275                 280                 285

Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu
    290                 295                 300

Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
305                 310                 315                 320

Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
                325                 330                 335

Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
            340                 345                 350
```

Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
355 360 365

Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
370 375 380

Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
385 390 395 400

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
405 410 415

Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
420 425 430

Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
435 440 445

Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
450 455 460

Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
465 470 475 480

Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
485 490 495

Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro

500 505 510

Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
515 520 525

Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
530 535 540

Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
545 550 555 560

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
565 570 575

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
580 585 590

Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
595 600 605

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
610 615 620

Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
625 630 635 640

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
645 650 655

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
660 665 670

His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg
675 680 685

Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg
690 695 700

Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg
705 710 715 720

Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys
725 730 735

Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro
740 745 750

Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr
755 760 765

Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775

<210> 71
<211> 780
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 39

<400> 71

```
His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1               5                  10                  15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Glu Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly Gly
            20                  25                  30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His
        35                  40                  45

Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe
    50                  55                  60

Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro
65                  70                  75                  80

Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys
                85                  90                  95

Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His
            100                 105                 110

Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr
        115                 120                 125

Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn
    130                 135                 140
```

```
Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu
145                 150                 155                 160

Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu
                165                 170                 175

Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro
            180                 185                 190

Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala
        195                 200                 205

Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu
    210                 215                 220

Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys
225                 230                 235                 240

Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe
                245                 250                 255

Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu
            260                 265                 270

Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr
        275                 280                 285

Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp
    290                 295                 300
```

Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu
305 310 315 320

Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala
325 330 335

Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala
340 345 350

Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys
355 360 365

Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro
370 375 380

Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr
385 390 395 400

Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala
405 410 415

Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu
420 425 430

Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe
435 440 445

Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser
450 455 460

Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser
465 470 475 480

Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp
485 490 495

Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr
500 505 510

Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn
515 520 525

Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro
530 535 540

Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr
545 550 555 560

Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu
565 570 575

Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val
580 585 590

Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp
595 600 605

Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser

610 615 620

Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
625 630 635 640

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
645 650 655

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
660 665 670

Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val
675 680 685

Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro
690 695 700

Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe
705 710 715 720

Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu
725 730 735

Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn
740 745 750

Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr
755 760 765

Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775 780

<210> 72
<211> 780
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 40

<400> 72

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His
35 40 45

Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Thr Phe
50 55 60

Lys Ala Leu Val Leu Val Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro
65 70 75 80

Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys
85 90 95

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

100 105 110

Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr
115 120 125

Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn
130 135 140

Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu
145 150 155 160

Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu
165 170 175

Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro
180 185 190

Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Ala Arg Tyr Lys Ala
195 200 205

Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu
210 215 220

Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys
225 230 235 240

Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe
245 250 255

Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu
260 265 270

Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr
275 280 285

Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp
290 295 300

Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu
305 310 315 320

Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Leu Ala
325 330 335

Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala
340 345 350

Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys
355 360 365

Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro
370 375 380

Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr
385 390 395 400

Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala
405 410 415

Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu
420 425 430

Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe
435 440 445

Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser
450 455 460

Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser
465 470 475 480

Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp
485 490 495

Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr
500 505 510

Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn
515 520 525

Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro
530 535 540

Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr
545 550 555 560

Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu
565 570 575

Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Thr Val
580 585 590

Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp
595 600 605

Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser
610 615 620

Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
625 630 635 640

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
645 650 655

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
660 665 670

Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val
675 680 685

Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro
690 695 700

Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe
705 710 715 720

Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu

725 730 735

Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn
740 745 750

Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr
755 760 765

Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775 780

<210> 73
<211> 780
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 41

<400> 73

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His
35 40 45

Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Thr Phe
50 55 60

Lys Ala Leu Val Leu Val Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro
65 70 75 80

Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys
85 90 95

Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His
100 105 110

Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr
115 120 125

Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn
130 135 140

Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu
145 150 155 160

Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu
165 170 175

Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro
180 185 190

Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Ala Arg Tyr Lys Ala
195 200 205

Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu

210 215 220

Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys
225 230 235 240

Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe
245 250 255

Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu
260 265 270

Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr
275 280 285

Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp
290 295 300

Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu
305 310 315 320

Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Leu Ala
325 330 335

Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala
340 345 350

Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys
355 360 365

```
Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro
    370                 375                 380

Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr
385                 390                 395                 400

Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala
                405                 410                 415

Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu
            420                 425                 430

Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe
        435                 440                 445

Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser
    450                 455                 460

Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser
465                 470                 475                 480

Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp
                485                 490                 495

Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr
            500                 505                 510

Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn
        515                 520                 525
```

Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro
530 535 540

Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr
545 550 555 560

Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu
565 570 575

Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Thr Val
580 585 590

Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp
595 600 605

Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser
610 615 620

Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
625 630 635 640

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
645 650 655

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
660 665 670

Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val
675 680 685

Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro
690 695 700

Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe
705 710 715 720

Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu
725 730 735

Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn
740 745 750

Pro Met Val Leu Arg Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr
755 760 765

Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775 780

<210> 74
<211> 778
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GLP1-GDF15 42

<400> 74

Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu Gln Ala
1 5 10 15

```
Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly
            20                  25                  30

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser
        35                  40                  45

Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Thr Phe Lys Ala
    50                  55                  60

Leu Val Leu Val Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu
65                  70                  75                  80

Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys
                85                  90                  95

Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu
            100                 105                 110

Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly
        115                 120                 125

Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys
    130                 135                 140

Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg
145                 150                 155                 160

Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr
                165                 170                 175
```

Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe
180 185 190

Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Ala Arg Tyr Lys Ala Ala Phe
195 200 205

Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys
210 215 220

Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg
225 230 235 240

Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala
245 250 255

Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala
260 265 270

Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys
275 280 285

Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala
290 295 300

Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu
305 310 315 320

Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Leu Ala Glu Val

325 330 335

Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe
340 345 350

Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val
355 360 365

Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr
370 375 380

Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu
385 390 395 400

Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val
405 410 415

Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys
420 425 430

Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn
435 440 445

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro
450 455 460

Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys
465 470 475 480

Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu
485 490 495

Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val
500 505 510

Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg
515 520 525

Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu
530 535 540

Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser
545 550 555 560

Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Ala Glu Leu Val
565 570 575

Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Thr Val Met Asp
580 585 590

Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu
595 600 605

Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala
610 615 620

Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
625 630 635 640

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
645 650 655

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp His
660 665 670

Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala
675 680 685

Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu
690 695 700

Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala
705 710 715 720

Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro
725 730 735

Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met
740 745 750

Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp
755 760 765

Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
770 775

<210> 75
<211> 735

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp GSA-GDF15

<400> 75

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Thr Phe Lys Ala Leu Val Leu Val Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

```
Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Ala Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285
```

```
Cys Leu Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

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

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
```

435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Ala Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Thr Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
595 600 605

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
610 615 620

Gly Gly Ser Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
625 630 635 640

His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
645 650 655

Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
660 665 670

Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
675 680 685

His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
690 695 700

Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
705 710 715 720

Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
725 730 735

<210> 76
<211> 20
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit HSE

<400> 76

His Ser Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys
20

<210> 77
<211> 20
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit HGE-1

<400> 77

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Glu
1 5 10 15

Gln Ala Ala Lys
20

<210> 78
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit HGE-2

<400> 78

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys
1 5 10

<210> 79
<211> 21
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit ALV

<400> 79

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
1 5 10 15

Glu Asp His Val Lys
20

<210> 80
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit TDT

<400> 80

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

<210> 81
<211> 727
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Protein dung hợp HSA-GDF15

<400> 81

Glu Phe His His His His His His Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
1 5 10 15

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

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val
35 40 45

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
50 55 60

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

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
85 90 95

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
100 105 110

```
His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
        115                 120                 125

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
    130                 135                 140

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
145                 150                 155                 160

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
                165                 170                 175

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
            180                 185                 190

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
        195                 200                 205

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
    210                 215                 220

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

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly
                245                 250                 255

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
            260                 265                 270
```

```
Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
        275                 280                 285

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
    290                 295                 300

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
305                 310                 315                 320

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
                325                 330                 335

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
            340                 345                 350

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
        355                 360                 365

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
    370                 375                 380

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
385                 390                 395                 400

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
                405                 410                 415

Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
            420                 425                 430
```

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
435 440 445

Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
450 455 460

Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
465 470 475 480

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
485 490 495

Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
500 505 510

Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
515 520 525

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
530 535 540

Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
545 550 555 560

Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
565 570 575

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

580 585 590

Leu Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
595 600 605

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu
610 615 620

Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu
625 630 635 640

Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val
645 650 655

Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met
660 665 670

His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val
675 680 685

Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile
690 695 700

Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu
705 710 715 720

Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
725

<210> 82
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit VVS

<400> 82

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
1 5 10 15

<210> 83
<211> 713
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit dung hợp HSA-GDF15

<400> 83

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

```
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220
```

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

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

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
580 585 590

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp His Cys
595 600 605

Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser
610 615 620

Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
625 630 635 640

Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala
645 650 655

Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
660 665 670

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
675 680 685

Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
690 695 700

Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
705 710

<210> 84
<211> 762
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit dung hợp GLP1-GDF15 (I89R)

<400> 84

His Gly Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Leu Ser Lys Gln Met Glu Glu
1 5 10 15

Glu Ala Val Arg Leu Phe Ile Glu Trp Leu Lys Asn Gly Gly Pro Ser
20 25 30

Ser Gly Ala Pro Pro Pro Ser Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
35 40 45

Pro Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly
50 55 60

Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr
85 90 95

Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp
100 105 110

Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr
115 120 125

Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu
130 135 140

Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn
145 150 155 160

Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe
165 170 175

His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala
180 185 190

Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys
195 200 205

Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala
210 215 220

Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala
225 230 235 240

Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly
245 250 255

Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe
260 265 270

Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr
275 280 285

Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp
290 295 300

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

Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser
325 330 335

His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro
340 345 350

Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr
355 360 365

Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala
370 375 380

Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys
385 390 395 400

Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His
405 410 415

Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu
420 425 430

Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly
435 440 445

Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val
450 455 460

Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly
465 470 475 480

Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro
485 490 495

Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu
500 505 510

His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu
515 520 525

Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu
530 535 540

Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala

545 550 555 560

Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr
565 570 575

Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln
580 585 590

Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys
595 600 605

Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu
610 615 620

Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Ala Pro Ala Pro Ala Pro
625 630 635 640

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Asp His
645 650 655

Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala
660 665 670

Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu
675 680 685

Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala
690 695 700

Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro
705 710 715 720

Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met
725 730 735

Val Leu Arg Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp
740 745 750

Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
755 760