(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) **1-0023627**
(51)[7] **C07K 16/22**; C07K 16/26; C07K 16/18 (13) **B**

(21) 1-2013-03197 (22) 30/03/2012
(86) PCT/EP2012/055901 30/03/2012 (87) WO2012/131078 04/10/2012
(30) 11160921.0 01/04/2011 EP
(45) 25/05/2020 386 (43) 25/03/2014 312A
(73) BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH (DE)
Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim am Rhein, Germany
(72) GSCHWIND, Andreas (DE); OTT, Rene Georg (AT); BOUCNEAU, Joachim (BE); BUYSE, Mane-Ange (BE); DEPLA, Erik (BE)
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) PHÂN TỬ GẮN KẾT ĐẶC HIỆU KÉP GẮN KẾT VỚI YẾU TỐ TĂNG TRƯỞNG NỘI MẠC MẠCH MÁU (VEGF) VÀ ANGIOPOIETIN2 (ANG2), DƯỢC PHẨM VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT PHÂN TỬ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến phân tử gắn kết đặc hiệu kép gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu (VEGF) và Angiopoietin2 (Ang2), tốt hơn là ở dạng miền biến đổi đơn globulin miễn dịch tương tự VHH và kháng thể miền, và dược phẩm chứa các phân tử này. Dược phẩm theo sáng chế là hữu ích đế điều trị các bệnh có liên quan đến các tác dụng thông qua VEGF và/hoặc Ang2 liên quan đến sự hình thành mạch. Ngoài ra, sáng chế cũng đề cập đến các phân tử axit nucleic mã hóa các phân tử gắn kết đặc hiệu kép, tế bào chủ chứa phân tử axit nucleic mã hóa này và phương pháp sản xuất phân tử này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phân tử gắn kết kháng lại sự hình thành mạch dùng trong liệu pháp điều trị cho người, cụ thể là, liệu pháp điều trị bệnh ung thư và các chất và các chế phẩm hữu ích dùng trong liệu pháp điều trị này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Khi khối u đạt đến kích cỡ tối ưu khoảng $1mm^3$ thì sự phát triển của chúng bị phụ thuộc vào sự hình thành mạch để duy trì sự cung cấp máu với oxy và chất dinh dưỡng để phát triển. Các liệu pháp điều trị chống hình thành mạch đã trở thành sự lựa chọn điều trị quan trọng đối với một số loại khối u. Các liệu pháp điều trị này tập trung chủ yếu vào việc phong bế con đường VEGF (Ferrara et al., Nat Rev Drug Discov. 2004 May;3(5):391-400.) bằng cách làm trung hòa VEGF (Avastin) hoặc các thụ thể của nó (Sutent và Sorafinib). Các nghiên cứu trên chuột gần đây đã cho thấy rằng Angiopoietin2 (Ang2), phối tử của thụ thể Tie2, kiểm soát sự tổ chức lại mạch bằng cách kích hoạt chức năng của các yếu tố hình thành mạch khác, như VEGF. Ang2 được biểu hiện chủ yếu bởi tế bào nội mô, được kích ứng mạnh bằng cách giảm oxy huyết và các yếu tố hình thành mạch khác và đã được chứng minh để điều chỉnh sự tạo hình mạch khối u, cho phép mạch đáp ứng với VEGF và FGF2 (Augustin et al., Nat Rev Mol Cell Biol. 2009 Mar;10(3):165-77). Theo vai trò này, việc loại bỏ hoặc ức chế Ang2 sẽ làm giảm sự hình thành mạch (Gale et al., Dev Cell. 2002 Sep; 3(3):302-4.) (Falcón et al., Am J Pathol. 2009 Nov;175(5):2159-70.). Nồng độ Ang2 của huyết tương tăng đã được báo cáo đối với người bệnh mắc bệnh ung thư trực tràng, NSCLC và khối u ác tính (Goede et al., Br J Cancer. 2010 Oct 26;103(9):1407-14), (Park et al., Chest. 2007 Jul;132(1): 200-6.), (Helfrich et al., Clin Cancer Res. 2009 Feb 15;15(4):1384-92.). Ở bệnh ung thư CRC, nồng độ Ang2 của huyết thanh liên quan đến đáp ứng điều trị với liệu pháp điều trị kháng VEGF.

Hệ Ang-Tie bao gồm 2 thụ thể (Tie1 và Tie2) và 3 phối tử (Ang1, Ang2 và Ang4) (Augustin et al., Nat Rev Mol Cell Biol. 2009 Mar; 10(3):165-77.). Tie2, Ang1 và Ang2 là các thành viên được nghiên cứu chi tiết nhất của họ này, Tie1 là thụ thể

dòng mồ côi và vai trò của Ang4 đối với sự tổ chức lại mạch vẫn cần được xác định. Ang2 và Ang1 làm trung gian gây ra các chức năng đối lập nhau khi gắn kết và hoạt hóa Tie2. Sự hoạt hóa Tie2 thông qua Ang2 dẫn đến sự hoạt hóa tế bào nội mô, phân ly tế bào ngoại mạch, rò mạch và kích thích phát triển mới mạch. Trái với Ang2, sự tạo tín hiệu Ang1 duy trì tính nguyên vẹn của mạch nhận tế bào ngoài mạch, nhờ đó duy trì sự phát triển bình thường của tế bào nội mô.

Angiopoietin 2 (Ang2) là phối tử chưa rõ, có kích thước 66 kDa, của thụ thể Tie2 tyrosin kinaza (Augustin et al., Nat Rev Mol Cell Biol. 2009 Mar;10(3):165-77). Ang2 bao gồm miền xoắn kép đầu N và miền tương tự fibrinogen đầu C, miền tương tự fibrinogen này cần cho sự tương tác Tie2. Ang2 được biểu hiện chủ yếu bởi tế bào nội mô và được cảm ứng mạnh bởi sự giảm oxy huyết và các yếu tố hình thành mạch khác, bao gồm cả VEGF. Tie2 được tìm thấy trên tế bào nội mô, tế bào gốc tạo máu và tế bào khối u. Ang2-Tie2 đã được chứng minh điều chỉnh tính nguyên vẹn mạch của khối u, cho phép mạch đáp ứng với VEGF và FGF2.

Ang2 đã cho thấy có tác dụng *in vitro* như chất gây phân bào ở mức trung bình, chất hóa ứng động và chất cảm ứng sự hình thành ống ở tế bào nội mô tĩnh mạch rốn của người (human umbilical vein endothelial cell: HUVEC). Ang2 gây ra sự phosphoryl hóa tyrosin của Tie2 được biểu hiện lạc vị ở nguyên bào sợi và các sự kiện tạo tín hiệu xuôi dòng, như phosphoryl hóa ERK-MAPK, AKT và FAK ở HUVEC. Vai trò đối kháng của Ang2 trong các đáp ứng tế bào nội mô do Ang1 gây ra đã được mô tả.

Quan sát thấy rằng sự thiếu hụt Ang2 sẽ dẫn đến sự thiếu hụt tạo mô hình bạch huyết sơ khởi ở chuột. Mặc dù sự mất Ang2 có thể không cần cho sự phát triển mạch của phôi, nhưng chuột thiếu hụt Ang2 có mạch không bền ở võng mạc và thận. Cùng với mô hình động học của sự biểu hiện Ang2 ở các vị trí hình thành mạch (ví dụ, buồng trứng), thì các phát hiện này cho rằng Ang2 kiểm soát sự tổ chức lại mạch bằng cách thực hiện chức năng của các yếu tố hình thành mạch khác, như VEGF.

Hệ Ang2-Tie2 tạo ra các vai trò cốt yếu trong quá trình thay đổi hình thành mạch và các giai đoạn sau của sự hình thành mạch khối u. Sự biểu hiện của Ang2 được điều chỉnh tăng một cách mạnh mẽ ở nội mô liên quan đến khối u. Đã thấy rằng sự phát triển của khối u bị giảm khi cấy vào chuột thiếu hụt Ang2, cụ thể là trong các giai đoạn

sớm của sự phát triển khối u. Sự phong bế điều trị của Ang2 bằng Ang2 mAb đã cho thấy có hiệu quả rõ ràng ở nhiều mô hình ghép ngoại lai khối u. Các tác dụng phụ của Ang2 mAb với các chất ức chế VEGFR2 (mAb và chất ức chế có trọng lượng phân tử nhỏ) đã được mô tả.

Như được mô tả trong, ví dụ, US 2008/0014196 và WO2008/101985, sự hình thành mạch có liên quan đến sự phát sinh bệnh của nhiều rối loạn, bao gồm các khối u rắn và di căn cũng như các bệnh về mắt. Một trong các yếu tố trước hình thành mạch quan trọng nhất đó là yếu tố phát triển nội mô mạch (VEGF), còn được viết tắt là VEGF-A hoặc yếu tố xâm nhập mạch (VPF). VEGF thuộc họ gen bao gồm yếu tố phát triển nhau thai (PlGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E và VEGF-F. Theo cách khác, sự ghép đôi của ARN thông tin của gen đơn lẻ của VEGF của người tạo ra ít nhất sáu đồng đẳng (VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF183, VEGF189 và VEGF206), trong đó VEGF165 là đồng đẳng nhiều nhất.

Hai thụ thể VEGF tyrosin kinaza (VEGFR) đã được nhận diện là phản ứng với VEGF, nghĩa là VEGFR-1 (cũng được biết là FIt-1) và VEGFR-2 (cũng được biết là KDR hoặc FIK-1). VEGFR-1 có ái lực cao nhất đối với VEGF, trong khi VEGFR- 2 có ái lực với VEGF thấp hơn một chút. Ferrara (Endocrine Rev. 2004, 25: 581-611) đề xuất phần mô tả chi tiết VEGF, sự tương tác với các thụ thể của nó và chức năng của nó trong các quy trình bình thường và bệnh lý có thể được tìm thấy trong Hoeben et al. Pharmacol. Rev. 2004, 56: 549-580.

VEGF đã được báo cáo là yếu tố điều chỉnh then chốt của sự hình thành mạch bình thường và bất thường (Ferrara and Davis-Smyth, Endocrine Rev. 1997, 18: 4-25; Ferrara J. MoL Med. 1999, 77: 527-543). So sánh với các yếu tố phát triển khác mà góp phần vào các quy trình hình thành mạch, VEGF có tính đặc hiệu cao duy nhất đối với tế bào nội mô trong hệ mạch.

ARN thông tin của VEGF được biểu hiện quá mức bởi phần lớn các khối u của người. Trong trường hợp phát triển khối u, sự hình thành mạch xuất hiện mà cốt yếu để chuyển từ sự tăng sản thành tạo khối u và cung cấp sự nuôi dưỡng để phát triển và di căn khối u (Folkman et al., 1989, Nature 339-58), điều này cho phép tế bào khối u đạt được lợi thế phát triển so với tế bào bình thường. Do đó, các liệu pháp điều trị chống hình thành mạch đã trở thành sự lựa chọn điều trị quan trọng đối với vài loại

khối u. Các liệu pháp điều trị này đã tập trung vào việc phong bế con đường VEGF (Ferrara et al., Nat Rev Drug Discov. 2004 May; 3(5): 391-400.

VEGF cũng liên quan đến các bệnh về mắt. Nồng độ của VEGF trong dịch mắt có tương quan ở mức cao với sự có mặt của sự tăng sinh tích cực mạch máu ở những người bệnh mắc bệnh đái tháo đường và các bệnh võng mạc liên quan đến chứng thiếu máu cục bộ khác. Ngoài ra, các nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng sự định vị của VEGF trong các màng mạch mới hắc mạc ở người bệnh bị tác động bởi thoái hóa điểm liên quan đến độ tuổi (AMD). Sự điều chỉnh tăng của VEGF cũng đã được quan sát ở các rối loạn viêm khác nhau. VEGF có liên quan đến sự phát sinh bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm trong đó sự hình thành mạch đóng vai trò quan trọng.

Sự giải thích của VEGF và vai trò của nó trong sự hình thành mạch và các quy trình khác nhau đã tạo ra đích mới hiệu lực để điều trị can thiệp. Chức năng của VEGF bị ức chế bởi các phân tử nhỏ phong bế hoặc phòng ngừa sự hoạt hóa thụ thể VEGF tyrosin kinaza (Schlaeppi and Wood, 1999, Cancer Metastasis Rev., 18: 473-481) và do đó làm cản trở con đường tải nạp tín hiệu thụ thể VEGF. Các tiếp hợp có độc tố chứa các độc tố vi khuẩn hoặc thực vật có thể ức chế tác dụng kích thích của VEGF đối với sự hình thành mạch khối u. Các tiếp hợp có độc tố VEGF-DT385 (các miền độc tố bệnh bạch cầu được dung hợp hoặc được tiếp hợp về mặt hóa học với VEGF165), ví dụ, ức chế một cách hiệu quả sự phát triển khối u *in vivo*. Sự ức chế phát triển khối u cũng có thể đạt được bằng cách phân phát đột biến FIk-1 hoặc thụ thể VEGF có thể hòa tan bởi retrovirut.

Các kháng thể làm trung hòa VEGF, như A4.6.l và MV833, đã được phát triển để phong bế VEGF gắn kết với thụ thể của nó và đã cho thấy chúng có hoạt tính kháng khối u cận lâm sàng (Kim et al. Nature 1993, 362:841-844; Folkman Nat. Med. 1995, 1:27-31; Presta et al. Cancer Res. 1997, 57:4593-4599; Kanai et al. Int. J. Cancer 1998, 77:933-936; Ferrara and Alitalo Nat. Med. 1999, 5:1359-1364; 320, 340. Để tham, khảo các phương pháp thử nghiệm điều trị kháng VEGF, xem : Campochiaro and Hackett (Oncogene 2003, 22: 6537-6548).

Hầu hết thử nghiệm lâm sàng đều thu được với A4.6.1, cũng được gọi là bevacizumab (Avastin®; Genentech, San Francisco, CA).

WO 2008/101985 đã mô tả các miền biến đổi đơn globulin miễn dịch từ lạc đà (VHH hoặc "Nanobodies®, theo sáng chế này) mà gắn kết với VEGF và sử dụng để điều trị các tình trạng bệnh hoặc bệnh mà đặc trưng bởi sự hình thành mạch quá mức và/hoặc phát sinh bệnh hoặc hình thành mạch mới.

WO 2010/040508 đã bộc lộ kháng thể kháng VEGF/kháng Ang-2 đặc hiệu kép. Các phân tử được bộc lộ trong tài liệu trên bởi trình tự đặc hiệu của chúng là các kháng thể tứ liên cổ điển, có tính đặc hiệu thứ hai do phần gắn kết thêm, đặc biệt là phần gắn kết scFv, dung hợp với đầu C của chuỗi nặng ("CrossMabs").

Bài báo được công bố bởi Kienast et al.: "Ang-2-VEGF-A CrossMab, a Novel Bispecific Human lgG1 Antibody Blocking VEGF-A and Ang-2 Functions Simultaneously, Mediates Potent Antitumor Antiangiogenic, and Antimetastatic Efficacy" (2013); Clinical Cancer Research 19(24); trang 6730-6740; bộc lộ thêm dữ liệu về một trong số các phân tử CrossMab được bộc lộ trong WO2010/040508, và thể hiện sự so sánh với các phân tử kháng Ang2 và kháng VEGF-A về tác dụng hoại tử với khối u.

Mục đích của sáng chế là đề xuất phân tử gắn kết kháng hình thành mạch mới dùng cho liệu pháp điều trị cho người.

Mục đích khác của sáng chế là đề xuất phương pháp phòng ngừa, điều trị, làm thuyên giảm và/hoặc chẩn đoán bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh, bao gồm bước sử dụng và/hoặc dùng các phân tử gắn kết này và chế phẩm chứa chúng. Cụ thể là, mục đích của sáng chế là đề xuất các phân tử gắn kết có hoạt tính dược lý, các chế phẩm và/hoặc phương pháp tạo ra các thuận lợi được so với các chất, các chế phẩm và/hoặc phương pháp được sử dụng hiện nay và/hoặc đã biết trong lĩnh vực này. Các thuận lợi này bao gồm các đặc tính điều trị và/hoặc dược lý được cải thiện và/hoặc các đặc tính thuận lợi khác, ví dụ, cho mục đích sản xuất, đặc biệt khi so sánh với các kháng thể thông thường như các kháng thể được mô tả trên đây hoặc các mảnh của chúng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất các phân tử gắn kết đặc hiệu kép Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến axit nucleic mã hóa các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế cũng như tế bào chủ chứa chúng.

Sáng chế còn đề cập đến sản phẩm hoặc chế phẩm chứa hoặc bao gồm ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế và tùy ý một hoặc nhiều hợp phần khác của chế phẩm này.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp bào chế hoặc tạo ra các phân tử gắn kết đặc hiệu kép, axit nucleic, tế bào chủ, sản phẩm và chế phẩm được mô tả theo sáng chế.

Sáng chế còn đề cập đến các ứng dụng và việc sử dụng các phân tử gắn kết đặc hiệu kép, axit nucleic, tế bào chủ, sản phẩm và chế phẩm được mô tả theo sáng chế, cũng như đến phương pháp phòng ngừa và/hoặc điều trị các bệnh và rối loạn mà có thể được điều biến bằng cách ức chế Ang2.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng hợp phần gắn kết Ang2 của các phân tử gắn kết đặc hiệu kép theo sáng chế gắn kết và gây đối kháng Ang2 với ái lực gắn kết lớn hơn ít nhất 5.000 lần, tốt hơn là lớn hơn 10.000 lần so với Ang1 hoặc Ang4. Điều này sẽ phòng ngừa phong bế ở mức độ lớn sự hoạt hóa tạo tín hiệu thông qua Ang1, dự kiến là sẽ đảo chiều tác dụng, kháng sự hình thành mạch.

Các tác giả sáng chế còn phát hiện ra rằng hợp phần gắn kết VEGF của các phân tử gắn kết đặc hiệu kép theo sáng chế gắn kết với VEGF-A với ái lực gắn kết lớn hơn ít nhất 1.000 lần, tốt hơn là lớn hơn ít nhất 5.000, tốt hơn nữa là lớn hơn ít nhất 10.000 lần so với VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D hoặc PLGF. Do gắn kết với VEGF-A được ưu tiên ở mức cao, việc tạo tín hiệu VEGFR3, mà điều biến sự hình thành mạch bạch huyết, là không bị cản trở.

Các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế được đề xuất là các miền VHH liên kết. Các phân tử này nhỏ hơn một cách đáng kể so với các kháng thể thông thường và do đó có khả năng thâm nhập vào khối u sâu hơn so với các kháng thể thông thường. Lợi ích này còn được nêu rõ bởi các trình tự đặc hiệu được bộc lộ theo sáng chế do không có các vị trí glycosyl hóa.

Hơn nữa, do bản chất đặc hiệu kép (các hợp phần gắn kết VEGF và Ang2 trong một phân tử), nên sự thâm nhập khối u của các chức năng này sẽ cần phải bằng nhau, điều này sẽ bảo đảm rằng các tác dụng có lợi của sự đối kháng kết hợp của VEGF với Ang2 sẽ được tạo ra trong toàn tiến trình thâm nhập vào khối u. Điều này là có lợi so

với sự kết hợp của các chất đối kháng đơn lẻ theo mục đích này, do tiến trình thâm nhập vào khối u của từng chất đối kháng, theo mức độ nào đó, thường bị thay đổi.

Thuận lợi khác của các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế là chu kỳ bán thải huyết thanh của chúng tăng do hợp phần gắn kết albumin huyết thanh như phân tử gắn kết albumin huyết thanh như được mô tả theo sáng chế.

Các khía cạnh, phương án, lợi ích và các ứng dụng nêu trên cũng như các khía cạnh, phương án, lợi ích và các ứng dụng khác của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng nếu dựa vào phần mô tả chi tiết dưới đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1: VHH hóa trị một được tinh chế phong bế sự tương tác hVEGF165/hVEGFR2-Fc (ELISA).

Fig.2: VHH hóa trị một được tinh chế phong bế sự tương tác hVEGF165/hVEGFR1-Fc (ELISA).

Fig.3: VHH hóa trị một được tinh chế phong bế sự tương tác hVEGF165/hVEGFR2-Fc (AlphaScreen).

Fig.4: VHH hóa trị một được tinh chế phong bế sự tương tác hVEGF165/hVEGFR1-Fc (AlphaScreen).

Fig.5: Sự gắn kết của VHH hóa trị một với VEGF tái tổ hợp của người và của chuột (ELISA).

Fig.6: Sự gắn kết của VHH tái tổ hợp với VEGF121 của người.

Fig.7: VHH được tinh chế không gắn kết với VEGFB, VEGFC, VEGFD và PIGF.

Fig.8: VHH được định dạng phong bế sự tương tác hVEGF165/hVEGFR2-Fc (ELISA).

Fig.9: VHH được định dạng phong bế sự tương tác hVEGF165/hVEGFR1-Fc (ELISA).

Fig.10: VHH được định dạng phong bế sự tương tác hVEGF165/hVEGFR2-Fc (AlphaScreen).

Fig.11: VHH được định dạng phong bế sự tương tác hVEGF165/hVEGFR1-Fc (AlphaScreen).

Fig.12: VHH được định dạng phong bế sự tương tác mVEGF164/mVEGFR2-Fc (AlphaScreen).

Fig.13: VHH được định dạng gắn kết với VEGF của chuột và người.

Fig.14: VHH được định dạng không gắn kết với VEGFB, VEGFC, VEGFD và PIGF.

Fig.15: VHH được định dạng gắn kết với VEGF121.

Fig.16: Sự sắp xếp trình tự của VHH VEGFBII23B04 với trình tự liên ứng dòng mầm VH3/JH của người.

Fig.17: Các đột biến VHH của VEGFBII23B04 phong bế sự tương tác hVEGF165/hVEGFR2-Fc (AlphaScreen).

Fig.18: Dòng vô tính được tối ưu hóa trình tự của VEGFBII23B04 phong bế sự tương tác hVEGF165/hVEGFR2-Fc (AlphaScreen).

Fig.19: Sự sắp xếp tình tự của VHH VEGFBII5B05 với trình tự liên ứng dòng mầm VH3/JH của người.

Fig.20: Mô tả Ang2 VHH hóa trị hai.

Fig.21: Ang2 VHH hóa trị hai được tinh chế phong bế sự tương tác hAng2-hTie2 (25-1), mAng2-mTie2 (25-2) và cAng2-cTie2 (25-3) (ELISA).

Fig.22: Ang2 VHH hóa trị hai được tinh chế phong bế sự tương tác hAng1-hTie2 (ELISA).

Fig.23: Mô tả VHH đặc hiệu kép VEGFxAng2 hóa trị ba.

Fig.24: VEGFxAng2 Nanobodies hóa trị ba được tinh chế phong bế sự tương tác hVEGF-hVEGFR2 (AlphaScreen).

Fig.25: VHH VEGFxAng2 hóa trị ba được tinh chế phong bế sự tương tác hAng2-hTie2 (ELISA).

Fig.26: Mô tả các VHH đặc hiệu kép VEGFxAng2 hóa trị ba và hóa trị bốn.

Fig.27: VEGFxAng2 VHH hóa trị ba và hóa trị bốn được tinh chế phong bế sự tương tác hVEGF-hVEGFR2 (31-1) và hVEGF-hVEGFR1 (31-2) (AlphaScreen).

Fig.28: VEGFxAng2 VHH hóa trị ba và hóa trị bốn được tinh chế phong bế sự tương tác hAng2-hTie2 (32-1), mAng2-mTie2 (32-2) và cAng2-cTie2 (32-3) (ELISA).

Fig.29: VEGFxAng2 VHH hóa trị ba và hóa trị bốn được tinh chế phong bế sự tồn tại của HUVEC qua trung gian hAng2.

Fig.30: Mô tả VHH đặc hiệu kép VEGFxAng2 được tối ưu hóa trình tự và ái lực.

Fig.31: VEGFANGBII00022-25-28 VEGFxAng2 VHH được tinh chế phong bế sự tương tác hVEGF-hVEGFR2 (35-1) và hVEGF-hVEGFR1 (35-2) (AlphaScreen).

Fig.32: VEGFANGBII00022-25-28 VEGFxAng2 được tinh chế gắn với VEGF165 (36-1) và hVEGF121 (36-2) của người (ELISA).

Fig.33: VEGFANGBII00022-25-28 VEGFxAng2 VHH được tinh chế gắn kết với VEGF164 của chuột nhắt (A) và chuột cống (B) (ELISA).

Fig.34: VEGFANGBII00022-25-28 VEGFxAng2 VHH được tinh chế gắn kết với VEGF-B của người (A), VEGF-C của người (B), VEGF-D của người (C) và PlGF của người (D) (ELISA).

Fig.35: VEGFANGBII00022-25-28 VEGFxAng2 VHH được tinh chế phong bế sự tương tác hAng2-hTie2 (39-1), mAng2-mTie2 (39-2) và cAng2-cTie2 (39-3) (ELISA).

Fig.36: VEGFANGBII00022-25-28 VEGFxAng2 VHH được tinh chế phong bế sự tương tác hAng1-hTie2 (ELISA).

Fig.37: VEGFANGBII00022-25-28 VEGFxAng2 VHH được tinh chế phong bế sự tồn tại của HUVEC qua trung gian hAng2.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa

Trừ khi có chỉ định hoặc quy định khác, tất cả các thuật ngữ được sử dụng có nghĩa thông thường trong lĩnh vực kỹ thuật này, mà được hiểu rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Tham chiếu, ví dụ, được thực hiện đến các tài liệu hướng dẫn chuẩn, như Sambrook et al, "Molecular Cloning: A Laboratory

Manual" (xuất bản lần thứ hai), các tập từ 1 đến 3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); Lewin, "Genes IV", Oxford University Press, New York, (1990) và Roitt et al., "Immunology" (xuất bản lần thứ hai), Gower Medical Publishing, London, New York (1989), cũng như các lĩnh vực kỹ thuật chung được trích dẫn theo sáng chế. Hơn nữa, trừ khi có quy định khác, tất cả phương pháp, công đoạn, kỹ thuật và các thao tác không được mô tả một cách cụ thể chi tiết có thể được thực hiện và đã được thực hiện theo cách đã biết, như sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Tham chiếu, ví dụ, được thực hiện đến các tài liệu hướng dẫn tiêu chuẩn, đến các lĩnh vực kỹ thuật chung được đề cập trên đây và các tham chiếu khác được trích dẫn theo sáng chế.

Thuật ngữ "phân tử gắn kết đặc hiệu kép" đề cập đến phân tử bao gồm ít nhất một phân tử gắn kết Ang2 (hoặc "hợp phần gắn kết Ang2") và ít nhất một phân tử gắn kết VEGF (hoặc "hợp phần gắn kết VEGF"). Phân tử gắn kết đặc hiệu kép có thể chứa nhiều hơn một phân tử gắn kết Ang2 và/hoặc nhiều hơn một phân tử gắn kết VEGF, nghĩa là trong trường hợp mà phân tử gắn kết đặc hiệu kép chứa phân tử gắn kết Ang2 paratop kép (như được xác định dưới đây) và/hoặc phân tử gắn kết VEGF paratop kép, trong phần của phân tử gắn kết với Ang2 hoặc với VEGF, nghĩa là lần lượt trong "hợp phần gắn kết Ang2" (hoặc hợp phần kháng Ang2) hoặc "hợp phần gắn kết VEGF" (hoặc hợp phần kháng VEGF) của nó. Tuy nhiên, từ "đặc hiệu kép" theo sáng chế không được dùng giải thích nhằm loại trừ các hợp phần gắn kết khác với tính đặc hiệu gắn kết với các phân tử không phải VEGF và Ang2 từ phân tử gắn kết đặc hiệu kép. Các ví dụ không giới hạn về các hợp phần gắn kết khác là các hợp phần gắn kết gắn kết với albumin huyết thanh.

Trừ khi có quy định khác, thuật ngữ "globulin miễn dịch" và "trình tự globulin miễn dịch" - nếu được sử dụng theo sáng chế đề cập đến kháng thể chuỗi nặng hoặc đến kháng thể 4 chuỗi thông thường - được sử dụng như các thuật ngữ chung bao gồm kháng thể có kích cỡ đầy đủ, các chuỗi đơn của nó, cũng như tất cả các phần, miền hoặc các mảnh của nó (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các miền hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên như lần lượt là miền VHH hoặc miền VH/VL). Ngoài ra, thuật ngữ "trình tự" như được sử dụng theo sáng chế (ví dụ các thuật ngữ tương tự "trình tự globulin miễn dịch", "trình tự kháng thể", "trình tự miền biến đổi (đơn lẻ)", "trình tự VHH" hoặc "trình tự protein"), bao gồm trình tự axit amin có liên quan cũng như trình

tự axit nucleic hoặc trình tự nucleotit mã hóa chúng, trừ phi các yêu cầu theo sáng chế, sự giải thích theo nghĩa hẹp hơn.

Thuật ngữ "miền" (của polypeptit hoặc protein) theo sáng chế đề cập đến cấu trúc protein gấp nếp mà có khả năng giữ lại cấu trúc bậc ba một cách độc lập với phần còn lại của protein. Thông thường, các miền có thể đáp ứng với các đặc tính chức năng riêng biệt của protein và trong nhiều trường hợp có thể được bổ sung, loại bỏ hoặc chuyển cho các protein khác mà không mất chức năng của phần còn lại của protein và/hoặc miền.

Thuật ngữ "miền globulin miễn dịch" theo sáng chế đề cập đến vùng có dạng hình cầu của chuỗi kháng thể (như, ví dụ, chuỗi kháng thể 4 chuỗi thông thường hoặc kháng thể chuỗi nặng) hoặc đến polypeptit mà hầu như bao gồm vùng dạng hình cầu này. Các miền globulin miễn dịch được đặc trưng ở chỗ chúng giữ lại đặc trưng gấp nếp globulin miễn dịch của các phân tử kháng thể, mà bao gồm dạng bánh kẹp 2 lớp gồm khoảng 7 sợi beta đối song được sắp xếp theo hai tấm beta, tùy ý được làm ổn định bởi liên kết disulphua được bảo toàn. Miền globulin miễn dịch bao gồm (a) (các) miền biến đổi, nghĩa là, một hoặc nhiều miền biến đổi globulin miễn dịch.

Thuật ngữ "miền biến đổi globulin miễn dịch" theo sáng chế có nghĩa là miền globulin miễn dịch hầu như bao gồm bốn "vùng khung" mà được đề cập đến trong lĩnh vực này và dưới đây lần lượt là "vùng khung 1" hoặc "FR1"; là "vùng khung 2" hoặc "FR2"; là "vùng khung 3" hoặc "FR3"; và là "vùng khung 4" hoặc "FR4"; các vùng khung này bị phá vỡ bởi ba "vùng quyết định phần bổ trợ" hoặc "CDR", được đề cập đến trong lĩnh vực này và dưới đây lần lượt là "vùng quyết định phần bổ trợ 1" hoặc "CDR1"; là "vùng quyết định phần bổ trợ 2" hoặc "CDR2"; và là "vùng quyết định phần bổ trợ 3" hoặc "CDR3". Do đó, cấu trúc hoặc trình tự chung của các miền biến đổi globulin miễn dịch có thể được biểu thị như sau: FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4. Cấu trúc hoặc tình tự này là (các) miền biến đổi globulin miễn dịch mà tạo ra tính đặc hiệu của kháng thể đối với kháng nguyên do tạo ra vị trí gắn kết kháng nguyên. Các phân tử của sáng chế bao gồm miền biến đổi đơn globulin miễn dịch tương tự VHH.

Thuật ngữ "miền biến đổi đơn globulin miễn dịch" theo sáng chế có nghĩa là miền biến đổi globulin miễn dịch mà có khả năng gắn kết đặc hiệu với epitop của

kháng nguyên mà không ghép đôi với miền globulin miễn dịch biến đổi bổ sung. Một ví dụ về miền biến đổi đơn globulin miễn dịch theo nghĩa của sáng chế là "kháng thể miền", như miền biến đổi đơn globulin miễn dịch VH và VL (miền VH và miền VL). Ví dụ khác về miền biến đổi đơn globulin miễn dịch là "các miền VHH" (hoặc đơn giản là "VHH") từ lạc đà, như được xác định sau đây.

Theo định nghĩa trên đây, miền gắn kết kháng nguyên của kháng thể 4 chuỗi thông thường (như phân tử IgG, IgM, IgA, IgD hoặc IgE; đã được biết trong lĩnh vực này) hoặc mảnh Fab, mảnh F(ab')2, mảnh Fv như Fv được liên kết disulphua hoặc mảnh scFv hoặc diabody (cũng được biết trong lĩnh vực này) có nguồn gốc từ kháng thể 4 chuỗi thông thường, thường sẽ không được coi là miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, như, trong các trường hợp này, gắn kết với epitop tương ứng của kháng nguyên mà thường sẽ không xảy ra bởi một (đơn lẻ) miền globulin miễn dịch nhưng bởi một cặp (kết hợp) các miền globulin miễn dịch như miền biến đổi chuỗi nhẹ và nặng, nghĩa là bởi cặp VH-VL của các miền globulin miễn dịch, mà gắn kết kết hợp với epitop của kháng nguyên tương ứng.

"Miền VHH", cũng được biết là VHH, miền V_HH, mảnh kháng thể VHH và kháng thể VHH, ban đầu đã được mô tả là miền (biến đổi) globulin miễn dịch gắn kết kháng nguyên của "kháng thể chuỗi nặng" (nghĩa là "kháng thể không có chuỗi nhẹ"; Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S, Robinson G, Hamers C, Songa EB, Bendahman N, Hamers R.: "Naturally occurring antibodies devoid of light chains"; Nature 363, 446-448 (1993)). Thuật ngữ "miền VHH" đã được chọn để phân biệt các miền biến đổi này với các miền biến đổi chuỗi nặng mà có mặt trong kháng thể 4 chuỗi thông thường (mà được đề cập đến theo sáng chế là "miền V_H" hoặc "miền VH") và với miền biến đổi chuỗi nhẹ mà có mặt trong kháng thể 4 chuỗi thông thường (mà được đề cập đến theo sáng chế là "miền V_L" hoặc "miền VL"). Các miền VHH có thể gắn kết đặc hiệu với epitop mà không có miền gắn kết kháng nguyên bổ sung (như tương phản với các miền VH hoặc VL trong kháng thể 4 chuỗi thông thường, trong trường hợp đó epitop được nhận diện bởi miền VL cùng với miền VH). Các miền VHH là các đơn vị nhận biết kháng nguyên nhỏ, khỏe và hiệu quả được tạo ra bởi miền globulin miễn dịch đơn.

Theo sáng chế, thuật ngữ miền VHH, VHH, miền V_HH, mảnh kháng thể VHH, kháng thể VHH, cũng như "Nanobody®" và "miền Nanobody®" ("Nanobody" thương hiệu của công ty Ablynx N.V.; Ghent; Belgium) được sử dụng thay thế cho nhau và là các đại diện của miền biến đổi đơn globulin miễn dịch (có cấu trúc FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 và gắn kết đặc hiệu với epitop mà không cần sự có mặt của miền biến đổi globulin miễn dịch thứ hai) và được phân biệt với các miền VH bởi cũng được gọi là "các gốc có dấu hiệu phân biệt", như được xác định trong, ví dụ, Fig.1 của WO2009/109635.

Các gốc axit amin của miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, ví dụ, VHH, được đánh số theo cách đánh số thông thường đối với các miền V_H được nêu ra bởi Kabat et al. ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91), được áp dụng đối với các miền VHH từ lạc đà, như được thể hiện ví dụ, trên Fig.2 của Riechmann and Muyldermans, J. Immunol. Methods 231, 25-38 (1999). Theo cách đánh số này:

- FR1 bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí từ 1 đến 30,
- CDR1 bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí từ 31 đến 35,
- FR2 bao gồm các axit amin ở các vị trí từ 36 đến 49,
- CDR2 bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí từ 50 đến 65,
- FR3 bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí từ 66 đến 94,
- CDR3 bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí từ 95 đến 102 và
- FR4 bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí từ 103 đến 113.

Tuy nhiên, cần lưu ý rằng - như được biết đến trong lĩnh vực này đối với các miền V_H và các miền VHH - tổng số gốc axit amin trong mỗi trong các CDR có thể thay đổi và có thể không tương ứng với tổng số gốc axit amin được biểu thị bởi cách đánh số Kabat (nghĩa là, một hoặc nhiều vị trí theo cách đánh số Kabat không được giữ trong trình tự thực hoặc trình tự thực có thể chứa nhiều gốc axit amin hơn so với số được cho phép bởi cách đánh số Kabat). Thông thường, điều này có nghĩa là cách đánh số theo Kabat có thể hoặc không tương ứng với cách đánh số thực của các gốc axit amin trong trình tự thực.

Các phương pháp khác để đánh số gốc axit amin của các miền V_H, các phương pháp này cũng có thể được áp dụng theo cách tương tự với miền VHH, là đã được biết trong lĩnh vực này. Tuy nhiên, trong bản mô tả sáng chế, các điểm yêu cầu bảo hộ và các hình vẽ này, cách đánh số theo Kabat và được áp dụng cho các miền VHH như được mô tả trên đây sẽ được tiếp theo, trừ khi có quy định khác.

Thông thường, tổng số gốc axit amin trong miền VHH sẽ nằm trong khoảng từ 110 đến 120, thường là nằm trong khoảng từ 112 đến 115. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng các trình tự nhỏ hơn và dài hơn cũng có thể thích hợp đối với mục đích được mô tả theo sáng chế.

Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, ví dụ, VHH và kháng thể miền, theo phương án được ưu tiên của sáng chế, có số lượng các đặc điểm cấu trúc và đặc tính chức năng đơn nhất mà làm cho chúng thuận lợi ở mức cao để sử dụng trong liệu pháp điều trị như các phân tử gắn kết kháng nguyên có chức năng. Cụ thể là và không chỉ giới hạn ở, các miền VHH (mà đã được "thiết kế" theo bản chất để gắn kết về mặt chức năng với kháng nguyên mà không ghép đôi với miền biến đổi chuỗi nhẹ) có thể có chức năng như các đơn vị cấu trúc gắn kết kháng nguyên đơn, tương đối nhỏ, có chức năng.

Do các đặc tính đơn nhất của chúng, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, như được xác định theo sáng chế, tương tự VHH hoặc VH (hoặc VL) - riêng rẽ hoặc là một phần của polypeptit lớn hơn, ví dụ, phân tử paratop kép – tạo ra nhiều lợi ích đáng kể:

- chỉ miền đơn lẻ là cần thiết để gắn kết kháng nguyên với ái lực cao và với tính chọn lọc cao, do đó không cần phải có hai miền riêng rẽ có mặt, cũng không cần bảo đảm rằng có hai miền có mặt trong thể cấu tạo và cấu hình trong không gian thích hợp (nghĩa là thông qua việc sử dụng các cầu liên kết được thiết kế một cách đặc biệt, như với scFv);
- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch có thể được biểu hiện từ phân tử axit nucleic đơn và không cần phải thay đổi sau dịch mã bất kỳ (tương tự glycosyl hóa);
- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch có thể được thiết kế một cách dễ dàng thành các dạng có nhiều hóa trị và đa đặc hiệu (như được mô tả thêm theo sáng chế);

- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch có tính đặc hiệu và ái lực cao đối với đích của chúng, độc tố vốn có thấp và có thể được dùng qua các đường khác với dung hợp hoặc tiêm;

- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch có tính ổn định đối với nhiệt ở mức cao, độ pH, proteaza và các chất làm biến tính hoặc các điều kiện khác và do đó có thể được điều chế, được lưu giữ hoặc được vận chuyển mà không cần sử dụng các thiết bị làm lạnh;

- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch là dễ dàng và tương đối rẻ để điều chế, cả trên quy mô nhỏ và trên quy mô sản xuất. Ví dụ, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch có thể được tạo ra bằng cách sử dụng lên men vi sinh vật (ví dụ, như được mô tả thêm dưới đây) và không cần phải sử dụng các hệ biểu hiện động vật có vú, như với kháng thể thông thường chẳng hạn;

- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch là tương đối nhỏ (khoảng 15kDa hoặc nhỏ hơn 10 lần so với IgG thông thường) được so với kháng thể 4 chuỗi thông thường và các mảnh gắn kết kháng nguyên của nó và do đó thể hiện sự thâm nhập vào mô lớn (hơn) (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các khối u rắn và các mô dày đặc khác) và có thể được dùng với liều cao hơn so với kháng thể 4 chuỗi thông thường và các mảnh gắn kết kháng nguyên của nó;

- VHH có "các đặc tính gắn kết khoang" cũng được gọi là đặc hiệu (không kể do vòng CDR3 được mở rộng của chúng, được so với các miền VH từ các kháng thể 4 chuỗi) và do đó cũng có thể tiếp cận đích và epitop không thể tiếp cận với kháng thể 4 chuỗi thông thường và các mảnh gắn kết kháng nguyên của nó;

VHH có thuận lợi đặc biệt mà chúng có thể hòa tan ở mức cao và rất ổn định và không có xu hướng kết tập (như với các miền gắn kết kháng nguyên có nguồn gốc từ chuột được mô tả bởi Ward et al., Nature 341: 544-546 (1989)).

Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch theo sáng chế không bị giới hạn đến nguồn sinh học cụ thể mà từ đó chúng thu được hoặc đến phương pháp điều chế cụ thể. Ví dụ, các VHH thu được có thể bao gồm các bước sau đây:

(1) phân lập miền VHH có kháng thể chuỗi nặng có trong tự nhiên; hoặc sàng lọc thư viện bao gồm kháng thể chuỗi nặng hoặc VHH và phân lập VHH từ đó;

(2) biểu hiện phân tử axit nucleic mã hóa VHH với trình tự có trong tự nhiên;

(3) "được làm tương thích với người" (như được mô tả theo sáng chế) VHH, tùy ý sau khi hoàn thiện về mặt ái lực, với trình tự có trong tự nhiên hoặc biểu hiện axit nucleic mã hóa VHH được được làm tương thích với người;

(4) "tạo chuỗi" (như được mô tả dưới đây) miền chuỗi nặng biến đổi đơn globulin miễn dịch từ kháng thể có trong tự nhiên từ các loài động vật, cụ thể là các loài động vật có vú, như từ con người hoặc bằng cách biểu hiện phân tử axit nucleic mã hóa miền được tạo chuỗi này;

(5) "tạo chuỗi" VH hoặc biểu hiện phân tử axit nucleic mã hóa VH được tạo chuỗi này;

(6) bằng cách sử dụng các kỹ thuật để điều chế protein tổng hợp hoặc bán tổng hợp, các polypeptit hoặc trình tự amin khác;

(7) điều chế phân tử axit nucleic mã hóa miền VHH bằng cách sử dụng các kỹ thuật để tổng hợp axit nucleic, tiếp theo bằng sự biểu hiện của axit nucleic thu được theo cách này;

(8) cho kháng thể chuỗi nặng hoặc VHH vào hoàn thiện về mặt ái lực, để gây đột biến (ví dụ, gây đột biến ngẫu nhiên hoặc gây đột biến điểm định hướng) và/hoặc (các) kỹ thuật khác bất kỳ để làm tăng ái lực và/hoặc tính đặc hiệu của VHH; và/hoặc

(9) kết hợp hoặc lựa chọn các bước nêu trên.

Các phương pháp và kỹ thuật thích hợp để thực hiện các bước được mô tả trên đây là đã biết trong lĩnh vực này và sẽ rõ ràng hơn đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Bằng cách ví dụ, phương pháp thu được các miền VHH gắn kết với kháng nguyên đặc hiệu hoặc epitop đã được mô tả trong WO2006/040153 và WO2006/122786.

Theo các phương án cụ thể, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của sáng chế hoặc có mặt trong polypeptit của sáng chế là các miền VHH với trình tự axit amin mà hầu như tương ứng với trình tự axit amin của miền VHH có trong tự nhiên, nhưng đã được "được làm tương thích với người" hoặc "được tối ưu hóa trình tự" (tùy ý sau khi hoàn thiện về mặt ái lực), nghĩa là bằng cách thay thế một hoặc nhiều gốc axit amin

trong trình tự axit amin của trình tự VHH có trong tự nhiên này bằng một hoặc nhiều gốc axit amin mà xảy ra ở (các) vị trí tương ứng trong miền chuỗi nặng biến đổi của kháng thể 4 chuỗi thông thường từ con người. Điều này có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, mà có thể được sử dụng thông thường bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Miền VHH được được làm tương thích với người có thể chứa một hoặc nhiều trình tự vùng khung của người đầy đủ và, theo phương án cụ thể hơn nữa, có thể chứa trình tự vùng khung của người có nguồn gốc từ trình tự Vh3 dòng mầm của người DP-29, DP-47, DP-51 hoặc các phần của nó hoặc tương đồng ở mức cao, tùy ý được kết hợp với trình tự JH, như JH5. Do đó, phương thức được làm tương thích với người có thể bao gồm sự thay thế bất kỳ trong số các gốc VHH bằng các gốc khung 1, 2 và 3 tương ứng (FRl, FR2 và FR3) của gen VH của dòng mầm như DP 47, DP 29 và DP 51) riêng rẽ hoặc kết hợp. Vùng khung (FR) thích hợp của miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của sáng chế có thể được chọn từ các vùng như được mô tả ví dụ trong WO2006/004678 và cụ thể là, bao gồm các nhóm cũng được gọi là "KERE" và "GLEW". Các ví dụ là miền biến đổi đơn globulin miễn dịch có trình tự axit amin G-L-E-W ở các vị trí khoảng từ 44 đến 47 và các bản sao được được làm tương thích với người tương ứng. Miền VHH được được làm tương thích với người có thể chứa một hoặc nhiều trình tự vùng khung của người đầy đủ.

Bằng cách ví dụ, sự thay thế được làm tương thích với người đối với VHH thuộc nhóm 103 P,R,S và/hoặc nhóm GLEW (như được xác định dưới đây) là từ 108Q đến 108L. Các phương pháp được làm tương thích với người miền biến đổi đơn globulin miễn dịch đã được biết trong lĩnh vực này.

Sự gắn kết miền biến đổi đơn globulin miễn dịch với các đặc tính được cải thiện theo quan điểm ứng dụng điều trị, ví dụ, ái lực được tăng cường hoặc tính sinh miễn dịch giảm, có thể thu được từ các phân tử gắn kết riêng rẽ bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này, như hoàn thiện về mặt ái lực (ví dụ, bắt đầu từ các trình tự globulin miễn dịch tổng hợp, ngẫu nhiên hoặc xuất hiện tự nhiên), các mảnh ghép CDR, được làm tương thích với người, kết hợp có nguồn gốc từ các trình tự globulin miễn dịch khác nhau, bộ lắp ráp PCR bằng cách sử dụng các đoạn mồi trùng khớp và các kỹ thuật tương tự để tạo ra trình tự globulin miễn dịch đã được biết đến đối với người có

hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này; hoặc kết hợp thích hợp bất kỳ của bất kỳ trong số các yếu tố nêu trên, cũng được gọi là "tối ưu hóa trình tự", như được mô tả theo sáng chế. Tham chiếu, ví dụ, được thực hiện đối với các tài liệu hướng dẫn tiêu chuẩn, cũng như đối với phần mô tả khác và phần Ví dụ thực hiện sáng chế.

Nếu thích hợp, phân tử gắn kết với ái lực gia tăng có thể thu được bằng cách hoàn thiện về mặt ái lực của phân tử gắn kết khác, sự hoàn thiện về mặt ái lực thể hiện, với phân tử hoàn thiện về mặt ái lực, phân tử gắn kết "bố mẹ".

Các phương pháp thu được VHH mà gắn kết với kháng nguyên đặc hiệu hoặc epitop đã được mô tả trước, ví dụ, trong WO2006/040153 và WO2006/122786. Cũng được mô tả chi tiết theo sáng chế, các miền VHH có nguồn gốc từ lạc đà có thể "được được làm tương thích với người" (cũng được gọi là "được tối ưu hóa trình tự" theo sáng chế, "sự tối ưu hóa trình tự" có thể, ngoài việc được làm tương thích với người, bao gồm thay đổi bổ sung trình tự bởi một hoặc nhiều đột biến mà cung cấp VHH với các đặc tính được cải thiện, như loại bỏ các vị trí thay đổi sau dịch mã hiệu lực) bằng cách thay thế một hoặc nhiều gốc axit amin trong trình tự axit amin của trình tự VHH ban đầu bởi một hoặc nhiều gốc axit amin mà xảy ra ở (các) vị trí tương ứng trong miền VH từ kháng thể 4 chuỗi thông thường của người. Miền VHH được được làm tương thích với người có thể chứa một hoặc nhiều trình tự vùng khung của người hoàn toàn và, theo phương án cụ thể khác nữa, có thể chứa trình tự vùng khung của người có nguồn gốc từ DP-29, DP-47, DP-51 hoặc các phần của nó, tùy ý kết hợp với các trình tự JH, như JH5.

Kháng thể miền, cũng được biết là các "Dab" và "dAb" (được gọi là "kháng thể miền" và "dAb" được sử dụng như thương hiệu của công ty của GlaxoSmithKline) đã được mô tả, ví dụ, trong Ward, E.S., et al.: "Binding activities of a repertoire of single immunoglobulin secreted from Escherichia coli"; Nature 341: 544-546 (1989); Holt, L.J. et al.: "Domain antibodies: proteins for therapy"; TRENDS in Biotechnology 21(11): 484-490 (2003) và trong WO2003/002609.

Kháng thể miền hầu như tương ứng với các miền VH hoặc VL của các kháng thể từ các động vật có vú không phải lạc đà, cụ thể là các kháng thể 4 chuỗi của người. Để gắn kết với các epitop như miền gắn kết kháng nguyên đơn, nghĩa là không được ghép lần lượt với miền VL hoặc VH, sự chọn lọc đặc hiệu đối với các đặc tính gắn kết

kháng nguyên nếu cần, ví dụ, bằng cách sử dụng các thư viện trình tự miền VH hoặc VL đơn của người.

Kháng thể miền có, tương tự VHH, trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 13 đến 16kDa và nếu có nguồn gốc từ trình tự của người đầy đủ, thì không cần được làm tương thích với người để, ví dụ, sử dụng trong điều trị cho người. Như trong trường hợp của các miền VHH, chúng cũng được biểu hiện ở các hệ biểu hiện tế bào chưa có nhân thật, làm giảm đáng kể toàn bộ chi phí sản xuất.

Hơn nữa, cũng sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này rằng có thể "ghép" một hoặc nhiều CDR được nêu trên đây vào "các giá đỡ" khác, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các giá đỡ của người hoặc các giá đỡ không phải globulin miễn dịch. Các giá đỡ và kỹ thuật thích hợp để ghép CDR là đã được biết trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ "epitop" và "yếu tố quyết định kháng nguyên", mà có thể được sử dụng thay thế cho nhau, đề cập đến phần của đại phân tử, như polypeptit, mà được nhận diện bởi các phân tử gắn kết kháng nguyên, như các kháng thể hoặc polypeptit thông thường theo sáng chế và cụ thể là bởi vị trí gắn kết kháng nguyên của các phân tử này. Các epitop xác định vị trí gắn kết tối thiểu đối với globulin miễn dịch và do đó thể hiện đích có tính đặc hiệu của globulin miễn dịch.

Polypeptit (như globulin miễn dịch, kháng thể, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của sáng chế hoặc thường là phân tử gắn kết kháng nguyên hoặc mảnh của nó) mà có thể "gắn kết với" hoặc "gắn kết đặc hiệu với", mà "có ái lực đối với" và/hoặc "có tính đặc hiệu đối với" một số epitop, kháng nguyên hoặc protein (hoặc đối với ít nhất một phần, mảnh hoặc epitop của nó) là "tương phản với" hoặc "được định hướng tương phản với" epitop, kháng nguyên hoặc protein hoặc là phân tử "gắn kết" tương ứng với epitop, kháng nguyên hoặc protein. Theo sáng chế, hợp phần gắn kết VEGF cũng có thể được gọi là “làm trung hòa VEGF”.

Thông thường, thuật ngữ "tính đặc hiệu" đề cập đến nhiều loại kháng nguyên hoặc epitop khác nhau mà phân tử gắn kết kháng nguyên hoặc phân tử protein gắn kết kháng nguyên cụ thể (như miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của sáng chế) có thể gắn kết. Tính đặc hiệu của phân tử gắn kết kháng nguyên có thể được xác định dựa trên ái lực của nó và/hoặc ái lực. Ái lực, được thể hiện bởi hằng số cân bằng đối với sự

phân ly của kháng nguyên với protein gắn kết kháng nguyên (KD), là việc đo cường độ gắn kết giữa epitop và vị trí gắn kết kháng nguyên trên protein gắn kết kháng nguyên: nhỏ hơn giá trị KD, mạnh hơn cường độ gắn kết giữa epitop và phân tử gắn kết kháng nguyên (theo cách khác, ái lực cũng có thể được biểu hiện như hằng số ái lực (KA), mà là 1/KD). Như sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này (ví dụ dựa trên phần mô tả theo sáng chế), ái lực có thể được xác định theo cách đã biết trước, phụ thuộc vào kháng nguyên cụ thể quan tâm. Ái lực là việc đo cường độ gắn kết giữa phân tử gắn kết kháng nguyên (như globulin miễn dịch, kháng thể, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch hoặc polypeptit chứa nó và kháng nguyên thích hợp. Ái lực liên quan đến ái lực giữa epitop và vị trí gắn kết kháng nguyên của nó trên phân tử gắn kết kháng nguyên và số lượng vị trí gắn kết thích hợp có mặt trên phân tử gắn kết kháng nguyên.

Phần phân tử gắn kết kháng nguyên mà nhận biết epitop được gọi là paratop.

Trừ khi có quy định khác, thuật ngữ "phân tử gắn kết VEGF" hoặc "phân tử gắn kết Ang2" bao gồm các kháng thể kháng VEGF hoặc kháng thể kháng Ang2, mảnh kháng thể kháng VEGF hoặc mảnh kháng thể kháng Ang2, "các phân tử tương tự kháng thể kháng VEGF" hoặc "các phân tử tương tự kháng thể kháng Ang2", như được xác định theo sáng chế và tiếp hợp với bất kỳ trong số chúng. Các kháng thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể đơn dòng và các kháng thể đơn dòng được khảm. Thuật ngữ, "kháng thể" bao gồm globulin đầy đủ, tương tự các kháng thể đơn dòng được tạo ra bằng cách biểu hiện tái tổ hợp ở tế bào chủ, cũng như các mảnh kháng thể hoặc "phân tử tương tự kháng thể", bao gồm các kháng thể chuỗi đơn và các kháng thể tuyến tính, cũng được gọi là "SMIP" ("Small Modular Immunopharmaceuticals"), như, ví dụ, được mô tả trong WO2002/056910; phân tử tương tự kháng thể bao gồm miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, như được xác định theo sáng chế. Các ví dụ khác đối với các phân tử tương tự kháng thể là các kháng thể siêu họ globulin miễn dịch (IgSF) hoặc các phân tử ghép CDR.

"Phân tử gắn kết Ang2" hoặc "phân tử gắn kết VEGF" đề cập lần lượt đến các phân tử gắn kết đích hóa trị một (nghĩa là các phân tử mà gắn kết với một epitop của đích tương ứng) cũng như với các phân tử gắn kết có hai hoặc nhiều hóa trị (nghĩa là các phân tử gắn kết mà gắn kết với nhiều hơn một epitop, ví dụ, các phân tử "paratop

kép" như được xác định dưới đây). Các phân tử gắn kết Ang2 (hoặc VEGF) chứa nhiều hơn một miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết Ang2 (hoặc VEGF) cũng được gọi là phân tử gắn kết "định dạng", chúng có thể, nằm trong hợp phần gắn kết đích, ngoài miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, bao gồm các cầu liên kết và/hoặc các phần có chức năng phản ứng lại kích thích, ví dụ, các gốc kéo dài chu kỳ bán thải tương tự miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết albumin và/hoặc thành phần dung hợp tương tự albumin huyết thanh và/hoặc polyme tương tự PEG được gắn vào.

Thuật ngữ "phân tử gắn kết Ang2(hoặc VEGF) paratop kép" hoặc "miền biến đổi đơn globulin miễn dịch paratop kép" như được sử dụng theo sáng chế sẽ có nghĩa là phân tử gắn kết bao gồm miền biến đổi đơn globulin miễn dịch thứ nhất và miền biến đổi đơn globulin miễn dịch thứ hai như được xác định theo sáng chế, trong đó hai phân tử gắn kết với hai epitop không trùng khớp của kháng nguyên tương ứng. Các phân tử gắn kết paratop kép bao gồm miền biến đổi đơn globulin miễn dịch mà có các tính đặc hiệu khác nhau tương ứng với epitop. Phần phân tử gắn kết kháng nguyên (như kháng thể hoặc miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của sáng chế) mà nhận biết epitop được gọi là paratop.

Phân tử gắn kết được định dạng có thể, mặc dù ít được ưu tiên, cũng bao gồm hai miền biến đổi đơn globulin miễn dịch đồng nhất hoặc hai miền biến đổi đơn globulin miễn dịch khác nhau mà nhận biết các epitop đồng nhất hoặc trùng khớp hoặc kháng nguyên tương ứng của chúng. Trong trường hợp này, tương ứng với VEGF, hai miền biến đổi đơn globulin miễn dịch có thể gắn kết với epitop đồng nhất hoặc trùng khớp trong mỗi trong số hai monome mà tạo thành VEGF dime.

Thông thường, các phân tử gắn kết của sáng chế sẽ gắn kết với hằng số phân ly (K_D) nằm trong khoảng từ 10E-5 đến 10E-14 mol/lit (M) hoặc nhỏ hơn và tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10E-7 đến 10E-14 mol/lit (M) hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 10E-8 đến 10E-14 mol/lit và còn tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 10E-11 đến 10E-13, như được xác định, ví dụ, trong thử nghiệm Biacore hoặc Kinexa) và/hoặc với hằng số kết hợp (K_A) nhỏ nhất là 10E7 ME-1, tốt hơn nếu nhỏ nhất là 10E8 ME-1, tốt hơn nữa nếu nhỏ nhất là 10E9 ME-1, như nhỏ nhất là 10E11 ME-1. Giá trị K_D bất kỳ lớn hơn 10E-4M thường được cho là biểu hiện gắn kết không đặc hiệu. Tốt hơn là, polypeptit của sáng chế sẽ gắn kết với kháng nguyên mong muốn,

nghĩa là lần lượt là VEGF hoặc Ang2, với K_D nhỏ hơn 500nM, tốt hơn là nhỏ hơn 200nM, tốt hơn nữa là nhỏ hơn 10nM, như nhỏ hơn 500pM. Sự gắn kết đặc hiệu của protein gắn kết kháng nguyên với kháng nguyên hoặc epitop có thể được xác định theo cách thích hợp bất kỳ đã biết, bao gồm, ví dụ, các thử nghiệm được mô tả theo sáng chế, phân tích Scatchard và/hoặc thử nghiệm gắn kết cạnh tranh, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), thử nghiệm miễn dịch enzym (EIA) và thử nghiệm cạnh tranh kiểu bánh kẹp và các biến thể khác nhau của nó đã được biết trong lĩnh vực này.

Các gốc axit amin sẽ được chỉ định theo mã axit amin ba ký tự hoặc một ký tự chuẩn, như đã biết thông thường và được thống nhất sử dụng trong lĩnh vực này. Khi so sánh hai trình tự axit amin, thuật ngữ "sự khác nhau của axit amin" đề cập đến sự cài xen, khuyết đoạn hoặc thay thế số lượng gốc axit amin được chỉ định ở vị trí của trình tự tham chiếu, được so với trình tự thứ hai. Trong trường hợp (các) thay thế, (các) thay thế này tốt hơn là sẽ là (các) thay thế axit amin bảo toàn, mà có nghĩa là gốc axit amin được thay thế bằng gốc axit amin khác có cấu trúc hóa học tương tự và có ít hoặc hầu như không ảnh hưởng đến chức năng, hoạt tính hoặc các đặc tính sinh học khác của polypeptit. Các thay thế axit amin bảo toàn này đã được biết đến trong lĩnh vực này, ví dụ, từ WO1998/49185, trong đó, tốt hơn là, các thay thế axit amin bảo toàn là các thay thế trong đó một axit amin trong các nhóm từ (i) đến (v) sau đây được thay thế bằng gốc axit amin khác trong cùng nhóm: (i) các gốc béo, không phân cực hoặc phân cực ở mức không đáng kể: Ala, Ser, Thr, Pro và GIy; (ii) các gốc phân cực, mang điện tích âm và các amit (không mang điện) của chúng: Asp, Asn, GIu và GIn; (iii) các gốc phân cực, mang điện tích dương: His, Arg và Lys; (iv) các gốc béo lớn, không phân cực: Met, Leu, Ile, VaI và Cys; và (v) các gốc thơm: Phe, Tyr và Trp. Các thay thế axit amin bảo toàn được ưu tiên một cách đặc biệt là như sau: Ala thành GIy hoặc thành Ser; Arg thành Lys; Asn thành GIn hoặc thành His; Asp thành GIu; Cys thành Ser; GIn thành Asn; GIu thành Asp; Giy thành Ala hoặc thành Pro; His thành Asn hoặc thành GIn; Ile thành Leu hoặc thành VaI; Leu thành Ile hoặc thành VaI; Lys thành Arg, thành GIn hoặc thành GIu; Met thành Leu, thành Tyr hoặc thành Ile; Phe thành Met, thành Leu hoặc thành Tyr; Ser thành Thr; Thr thành Ser; Trp thành Tyr; Tyr thành Trp hoặc thành Phe; VaI thành Ile hoặc thành Leu.

Phân tử polypeptit hoặc axit nucleic được cho là "(ở) (dạng) hầu như phân lập được" - ví dụ, khi được so với nguồn sinh học gốc của nó và/hoặc môi trường phản

ứng hoặc môi trường nuôi dưỡng mà từ đó thu được nó - khi đã được tách từ ít nhất một hợp phần khác mà thường được kết hợp trong nguồn hoặc môi trường này, như protein/polypeptit khác, axit nucleic khác, hợp phần sinh học khác hoặc đại phân tử hoặc ít nhất một chất gây ô nhiễm, tạp chất hoặc hợp phần nhỏ. Cụ thể là, phân tử polypeptit hoặc axit nucleic được cho là "hầu như được phân lập" khi được tinh chế ít nhất 2 lần, cụ thể là ít nhất 10 lần, cụ thể hơn là ít nhất 100 lần và đến tối đa là 1000 lần hoặc lớn nhiều hơn. Tốt hơn là, phân tử polypeptit hoặc axit nucleic tức là "ở dạng hầu như được phân lập" hầu như là đồng nhất, như được xác định bằng cách sử dụng kỹ thuật thích hợp, như kỹ thuật sắc ký thích hợp, như điện di gel polyacrylamit.

"Mức độ tương đồng về trình tự" giữa hai trình tự phân tử gắn kết VEGF hoặc giữa hai trình tự phân tử gắn kết Ang2 cho biết tỷ lệ phần trăm axit amin đồng nhất giữa hai trình tự. Có thể tính được hoặc xác định được như được mô tả trong đoạn f) ở các trang 49 và 50 của WO2008/020079. "Mức độ tương đồng về trình tự" cho biết tỷ lệ phần trăm của axit amin đồng nhất hoặc thể hiện các thay thế axit amin bảo toàn.

Các phương pháp khác để đánh số gốc axit amin của các miền V_H, các phương pháp này cũng được áp dụng theo cách tương tự với các miền VHH, là đã biết trong lĩnh vực này. Tuy nhiên, theo sáng chế, các điểm yêu cầu bảo hộ và các hình vẽ, đánh số theo Kabat và được áp dụng cho các miền VHH như được mô tả trên đây sẽ được tiếp theo, trừ khi có quy định khác.

Phân tử gắn kết VEGF hoặc phân tử gắn kết Ang2 "hoàn thiện về mặt ái lực", cụ thể là VHH hoặc kháng thể miền, có một hoặc nhiều thay đổi trong một hoặc nhiều CDR mà dẫn đến ái lực đối với VEGF hoặc Ang2 được cải thiện, như được so với phân tử gắn kết VEGF hoặc phân tử gắn kết Ang2 cha mẹ tương ứng. Phân tử gắn kết VEGF hoặc phân tử gắn kết Ang2 hoàn thiện về mặt ái lực của sáng chế có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, như được mô tả bởi Marks et al., 1992, Biotechnology 10: 779-783 hoặc Barbas, et al., 1994, Proc. Nat. Acad. Sci, USA 91: 3809-3813.; Shier et al., 1995, Gene 169:147-155; Yelton et al., 1995, Immunol. 155: 1994-2004; Jackson et al., 1995, J. Immunol. 154(7):3310-9; và Hawkins et al., 1992, J. Mol. Biol. 226(3): 889 896; KS Johnson and RE Hawkins, "Affinity maturation of antibodies using phage display", Oxford University Press 1996.

Theo sáng chế, "trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:x": bao gồm, trừ khi có quy định khác, trình tự axit amin mà 100% đồng nhất với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: x tương ứng.

Thuật ngữ "bệnh ung thư" và "liên quan đến ung thư" đề cập đến hoặc mô tả tình trạng bệnh lý ở động vật có vú thường được đặc trưng bởi sự phát triển/tăng sinh tế bào bất thường. Các ví dụ về bệnh ung thư được điều trị bằng phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ung thư biểu mô, ung thư hạch bạch huyết, khối u tăng sinh, ung thư mô liên kết và bệnh bạch cầu. Các ví dụ cụ thể hơn về các bệnh ung thư này, như được đề xuất để điều trị bằng chất đối kháng VEGF trong US 2008/0014196, bao gồm ung thư tế bào có vảy, ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến phổi, ung thư biểu mô có vảy của phổi, ung thư màng bụng, ung thư tế bào gan, ung thư dạ dày-ruột, ung thư tuyến tụy, u nguyên bào đệm, ung thư cổ tử cung, ung thư buồng trứng, ung thư gan, ung thư bàng quang, ung thư gan, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư trực tràng, ung thư biểu mô màng trong tử cung hoặc tử cung, ung thư biểu mô tuyến nước bọt, ung thư thận, ung thư gan, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư âm hộ, ung thư tuyến giáp, ung thư biểu mô gan, ung thư dạ dày, khối u ắc tính và các loại ung thư đầu và cổ khác nhau. Sự rối loạn điều chỉnh sự hình thành mạch có thể dẫn đến nhiều rối loạn mà có thể được điều trị bằng các chế phẩm và phương pháp của sáng chế. Các rối loạn này bao gồm các tình trạng bệnh không thuộc khối u và thuộc khối u. Tình trạng bệnh thuộc khối u bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các tình trạng bệnh được mô tả trên đây.

Các rối loạn không thuộc khối u bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, như được đề xuất để điều trị bằng chất đối kháng VEGF trong US2008/0014196, chứng phì đại không mong muốn hoặc khác thường, viêm khớp, chứng viêm khớp dạng thấp (RA), bệnh vảy nến, mảng vảy nến, bệnh sarcoit, chứng xơ vữa động mạch, mảng xơ vữa động mạch, bệnh võng mạc do đái tháo đường và rối loạn tăng sinh khác bao gồm bệnh võng mạc chín sớm, bệnh xơ hóa sau thấu kính, bệnh tăng nhãn áp do mạch mới, thoái hóa điểm liên quan đến độ tuổi, chứng phù điểm do bệnh đái tháo đường, hình thành mạch mới màng sừng, hình thành mạch mới ghép màng sừng, thải loại mảnh ghép màng sừng, hình thành mạch mới võng mạc/hắc mạc, hình thành mạch mới góc (bệnh sởi), bệnh mạch mới ở mắt, chứng hẹp trở lại mạch, các dị tật động mạch (AVM), u màng não, u mạch máu, u xơ mạch, tăng sản tuyến giáp (bao gồm bệnh

Grave), ghép màng sừng và mô khác, viêm mạn tính, viêm phổi, tổn thương phổi cấp tính/ARDS, sự nhiễm trùng, tăng huyết áp phổi sơ cấp, sự trào phổi ắc tính, chứng phù não (ví dụ, có liên quan đến đột quỵ cấp tính/tổn thương đầu khép kín/chấn thương), viêm hoạt dịch, sự hình thành màng máu ở RA, hóa xương do viêm cơ, sự hình thành xương phì đại, viêm khớp xương mạn tính (OA), cổ trướng khó chữa, bệnh buồng trứng đa u nang, bệnh lạc nội mạc tử cung, khoảng cách thứ ba của bệnh dịch lỏng (viêm tụy, hội chứng chèn ép khoang, vết bỏng, bệnh ruột), xơ hóa tử cung, sinh non, viêm mạn tính như IBD (bệnh Crohn và viêm loét ruột kết), thải loại mảnh ghép cùng loại thận, bệnh viêm ruột, hội chứng hư thận, phát triển khối lượng mô không mong muốn hoặc khác thường (không phải bệnh ung thư), khớp phì đại, vết sẹo do phì đại, ức chế phát triển tóc, hội chứng Osier-Weber, bệnh xơ hóa sau thấu kính do u hạt gây mù, bệnh cứng da, bệnh mắt hột, sự dính mạch, viêm màng hoạt dịch, chứng viêm da, chứng tiền kinh giật, cổ trướng, trào màng ngoài tim (như có liên quan đến bệnh viêm màng ngoài tim) và trào ngược màng phổi.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến phân tử gắn kết đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3.

Phân tử này bao gồm ít nhất một hợp phần gắn kết VEGF, ít nhất một hợp phần gắn kết Ang2 và ít nhất hợp phần gắn kết albumin huyết thanh (phân tử gắn kết albumin huyết thanh).

Hợp phần gắn kết albumin huyết thanh của phân tử gắn kết của sáng chế là miền biến đổi đơn globulin miễn dịch được phân lập hoặc polypeptit chứa một hoặc nhiều miền biến đổi đơn globulin miễn dịch này, trong đó miền biến đổi đơn globulin miễn dịch này bao gồm bốn vùng khung và ba vùng quyết định tính bổ trợ lần lượt là CDR1, CDR2 và CDR3 và trong đó CDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:257.

Một hoặc nhiều miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của hợp phần gắn kết albumin huyết thanh chứa

a) CDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:257;

b) CDR1 có các trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:255;

c) CDR2 có các trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:256.

Theo phương án được ưu tiên hơn, một hoặc nhiều miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của hợp phần gắn kết albumin huyết thanh là VHH có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:254.

Cụ thể là, CDR3 của miền gắn kết VEGF có trình tự

SEQ ID NO:4: SRAYGSSRLRLADTYEY.

Theo phương án được ưu tiên, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch là VHH, tốt hơn VHH có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:57.

Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết Ang2 bao gồm ít nhất miền biến đổi với bốn vùng khung và ba vùng quyết định tính bổ trợ lần lượt là CDR1, CDR2 và CDR3, trong đó CDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:250.

Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết Ang2, trong đó miền này chứa:

a) CDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 250 (cũng xem Bảng 49);

b) CDR1 có các trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 248 (cũng xem Bảng 49);

c) CDR2 có các trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 249 (cũng xem Bảng 49).

Tốt hơn là, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của hợp phần gắn kết Ang2 là VHH, tốt hơn là có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 222.

Do đó, sáng chế đề cập đến phân tử gắn kết chứa VHH gắn kết Ang2 với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 222.

Theo sáng chế, các phân tử gắn kết của sáng chế là như được xác định trong các điểm từ 1 đến 3, bao gồm ít nhất một hợp phần gắn kết albumin huyết thanh, ít nhất một hợp phần gắn kết VEGF, và ít nhất một hợp phần gắn kết Ang2. Thứ tự của ba hợp phần gắn kết này có thể là thứ tự có thể có bất kỳ như thứ tự được nêu trong Bảng 45-B, 46-A hoặc 47-A; hoặc trên Fig.30, ví dụ, hợp phần gắn kết VEGF, Ang2 hoặc albumin huyết thanh có thể có đầu N và đầu C. Đặc biệt là, "1D01" (SEQ ID No: 214), "11B07", "00027" (SEQ ID No:216), "00908", "7G08" (SEQ ID No:215), "00919",

"00921" (SEQ ID No: 220), "00928" (SEQ ID No:221), "00932", "00933", "00934", "00935", "00936", "00937", "00938" (SEQ ID No:222) hoặc "00956" (SEQ ID No:223) như được đề cập trong ghi chú của các Bảng và các Fig. được nêu trên đây có nghĩa là hợp phần gắn kết Ang2, trong khi "00038" có nghĩa là hợp phần gắn kết VEGF và "ALB11" có nghĩa là hợp phần gắn kết albumin huyết thanh. Không có hợp phần nào trong số chúng được tạo cấu trúc là trình tự đặc hiệu, nhưng có nghĩa là hợp phần gắn kết Ang2, VEGF và albumin huyết thanh nói chung khi được sử dụng trong nội dung của cách bố trí có thể có của các phân tử gắn kết của sáng chế.

Tuy nhiên, được ưu tiên rằng hợp phần gắn kết albumin huyết thanh là nằm trong khoảng từ hợp phần gắn kết VEGF đến Ang2 (hoặc ngược lại), trong khi được ưu tiên một cách đặc biệt là ít nhất một hợp phần gắn kết VEGF có đầu N, tiếp theo bởi ít nhất một hợp phần gắn kết albumin huyết thanh, tiếp theo bởi ít nhất một hợp phần gắn kết Ang2 ở đầu C. Sự bố trí này được thể hiện là hữu ích một cách đặc biệt.

Theo khía cạnh được ưu tiên, sáng chế đề cập đến phân tử gắn kết bao gồm ít nhất một hợp phần gắn kết VEGF, ít nhất một hợp phần gắn kết Ang2 và ít nhất một hợp phần gắn kết albumin huyết thanh có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 207.

Hợp phần gắn kết VEGF và/hoặc Ang2 với các đặc tính được cải thiện theo quan điểm các ứng dụng điều trị, ví dụ, ái lực được tăng cường hoặc tính miễn dịch giảm, có thể thu được từ các hợp phần gắn kết VEGF hoặc Ang2 của sáng chế bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này, như hoàn thiện về mặt ái lực (ví dụ, bắt đầu từ trình tự globulin miễn dịch tổng hợp, ngẫu nhiên hoặc có trong tự nhiên), các mảnh ghép CDR, các mảnh được làm tương thích với người, các mảnh kết hợp có nguồn gốc từ các trình tự globulin miễn dịch khác nhau, bộ PCR bằng cách sử dụng các đoạn mồi trùng khớp và các kỹ thuật tương tự để tạo ra trình tự globulin miễn dịch đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này; hoặc kết hợp thích hợp bất kỳ của bất kỳ trong số hợp phần nêu trên, cũng được gọi là "tối ưu hóa trình tự", như được mô tả theo sáng chế. Tham chiếu, ví dụ, được thực hiện theo các tài liệu hướng dẫn tiêu chuẩn, cũng như phần mô tả khác và phần Ví dụ thực hiện sáng chế.

Nếu thích hợp, hợp phần gắn kết VEGF hoặc Ang2 có mặt trong phân tử của sáng chế với ái lực gia tăng có thể thu được bằng cách hoàn thiện về mặt ái lực của

hợp phần gắn kết VEGF hoặc Ang2 khác, sự hoàn thiện về mặt ái lực thể hiện, tương ứng với phân tử hoàn thiện về mặt ái lực, hợp phần gắn kết VEGF "bố mẹ".

Trong các VEGF hoặc Ang2 VHH của phân tử của sáng chế mà bắt đầu với EVQ, E đầu N có thể được thay thế bằng D (mà thường là kết quả của sự tối ưu hóa trình tự) hoặc có thể bị khuyết (như đối với sự biểu hiện của VHH ở *E.coli).* Đối với hợp phần gắn kết VEGF được định dạng, thường chỉ áp dụng cho VHH mà được đặt tại đầu N.

Được ưu tiên, nhưng sự thay thế được làm tương thích với người không giới hạn đối với các miền VEGF VHH thuộc nhóm 103 P,R,S và/hoặc nhóm GLEW (như được xác định dưới đây) là từ 108Q đến 108L. Các phương pháp làm cho miền biến đổi đơn globulin miễn dịch được làm tương thích với người, là đã biết trong lĩnh vực này.

Theo phương án khác, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch là kháng thể miền, như được xác định theo sáng chế.

Theo phương án khác nữa, đại diện của nhóm miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết VEGF và/hoặc Ang2 của sáng chế có trình tự axit amin mà tương ứng với trình tự axit amin của miền VH có trong tự nhiên mà đã được "tạo chuỗi", nghĩa là bằng cách thay thế một hoặc nhiều gốc axit amin trong trình tự axit amin của chuỗi nặng biến đổi có trong tự nhiên từ kháng thể 4 chuỗi thông thường bằng một hoặc nhiều gốc axit amin mà xảy ra ở (các) vị trí tương ứng trong miền VHH của kháng thể chuỗi nặng. Điều này có thể được thực hiện theo cách đã biết trước, mà sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và ngoài ra, tham chiếu được thực hiện đến WO1994/04678. Tốt hơn là, sự tạo chuỗi có thể xảy ra ở các vị trí axit amin mà có mặt ở bề mặt chung VH-VL và ở gốc cũng được gọi là Camelidae Hallmark (cũng xem, ví dụ, WO1994/04678). Phần mô tả chi tiết về các kỹ thuật "được làm tương thích với người" và "tạo chuỗi" và các trình tự vùng khung được ưu tiên thích hợp còn có thể được tham chiếu từ ví dụ trang 46 và trang 98 của WO2006/040153 và trang 107 của WO2006/122786.

Hợp phần gắn kết VEGF của phân tử của sáng chế, nghĩa là, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, có tính đặc hiệu đối với VEGF, trong đó chúng gắn kết đặc hiệu với một hoặc nhiều epitop trong phân tử VEGF. Điều này cũng đúng đối với hợp phần gắn kết Ang2 của sáng chế.

Sự gắn kết đặc hiệu của hợp phần gắn kết VEGF với VEGF kháng nguyên của nó có thể được xác định theo cách thích hợp bất kỳ đã biết trước, bao gồm, ví dụ, các thử nghiệm được mô tả theo sáng chế, phân tích Scatchard và/hoặc thử nghiệm gắn kết cạnh tranh, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), thử nghiệm miễn dịch enzym (EIA và ELISA) và thử nghiệm cạnh tranh xăng-đuých và các biến thể khác nhau của nó đã được biết đến trong lĩnh vực này. Điều này cũng đúng đối với hợp phần gắn kết Ang2 khi gắn kết với kháng nguyên của nó.

Đối với VEGF kháng nguyên, hợp phần gắn kết VEGF của phân tử của sáng chế, nghĩa là, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, không bị giới hạn đến các loài. Do đó, tốt hơn là miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của sáng chế gắn kết với VEGF của người, nếu được dự định cho mục đích điều trị ở người. Tuy nhiên, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch mà gắn kết với VEGF từ các loài động vật có vú khác cũng nằm trong phạm vi của sáng chế miễn sao chúng nằm trong phạm vi các định nghĩa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3. Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với một loài tạo thành VEGF có thể phản ứng tương đương với VEGF, mà có trình tự khác với trình tự của người, từ một hoặc nhiều loài khác. Ví dụ, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với VEGF của người có thể thể hiện khả năng phản ứng tương đương với VEGF từ một hoặc nhiều loài khác của động vật linh trưởng và/hoặc với VEGF từ một hoặc nhiều loài động vật mà được sử dụng trong các mô hình động vật đối với các bệnh, ví dụ, khỉ, chuột nhắt, chuột cống, thỏ, lợn, chó và cụ thể là trong các mô hình động vật đối với các bệnh hoặc rối loạn có liên quan đến các tác dụng qua trung gian VEGF đối với sự hình thành mạch (như các loài và các mô hình động vật được nêu theo sáng chế). Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch thể hiện khả năng phản ứng ngang có thuận lợi trong nghiên cứu và/hoặc phát triển dược chất, do nó cho phép miền biến đổi đơn globulin miễn dịch được thử nghiệm trong các mô hình bệnh được xác nhận như khỉ, cụ thể là, Cynomolgus hoặc Rhesus hoặc chuột nhắt và chuột cống.

Tốt hơn là, do khả năng phản ứng tương đương với một hoặc nhiều phân tử VEGF từ các loài không phải con người mà được dự định để sử dụng làm mẫu động vật trong khi phát triển chất đối kháng VEGF điều trị, hợp phần gắn kết VEGF nhận biết epitop trong vùng VEGF quan tâm có mức độ đồng nhất ở mức cao với VEGF của người.

Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch nhận biết epitop mà, hoàn toàn hoặc riêng phần, được định vị trong vùng VEGF có liên quan để gắn kết với thụ thể của nó, cụ thể là với VEGFR-2, mà đã được thể hiện là thụ thể mà sự hoạt hóa của nó liên quan về mặt nguyên nhân gây hình thành mạch mới của khối u. Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch như đươch bộc lộ trong bản mô tả này phong bế sự hoạt hóa thụ thể VEGF, cụ thể là sự hoạt hóa VEGFR-2, ít nhất riêng phần hoặc hầu như hoặc hoàn toàn.

Như được mô tả trên đây, khả năng của hợp phần gắn kết VEGF phong bế sự tương tác giữa VEGF và thụ thể của nó, cụ thể là VEGFR-2, có thể được xác định bởi Thử nghiệm đồng nhất trạng thái gần phát quang được khuếch đại (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay-AlphaScreen®), ELISA cạnh tranh hoặc thử nghiệm dựa trên cộng hưởng plasmon (plasmon resonance-SPR) (Biacore®), như được mô tả trong các Ví dụ.

Tốt hơn là, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với VEGF với ái lực nhỏ hơn 500nM, tốt hơn là nhỏ hơn 200nM, tốt hơn nữa là nhỏ hơn 10nM, như nhỏ hơn 500pM (như được xác định bằng phân tích Cộng hưởng plasmon bề mặt, như được mô tả trong Ví dụ 5.7). Điều này cũng đúng đối với miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của sáng chế gắn kết với angiopoietin.

Tốt hơn là, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của sáng chế có các giá trị IC_{50}, như được xác định trong thử nghiệm cạnh tranh ELISA như được mô tả trong Ví dụ 5.1, nằm trong khoảng từ 10^{-6} đến 10^{-10}mol/lit hoặc ít hơn, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng 10^{-8} đến 10^{-10}mol/lit hoặc ít hơn và còn tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 10^{-9} đến 10^{-10}mol/lit hoặc ít hơn.

Theo phương án được ưu tiên, nhưng không giới hạn của sáng chế, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết VEGF của sáng chế gắn kết với VEGF với hằng số phân ly (K_D) nằm trong khoảng từ 10^{-5} đến 10^{-12} mol/lit (M) hoặc nhỏ hơn và tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10^{-7} đến 10^{-12} mol/lit (M) hoặc nhỏ hơn và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 10^{-8} đến 10^{-12} mol/lit (M) và/hoặc với hằng số kết hợp (K_A) nhỏ nhất 10^7 M^{-1}, tốt hơn là nhỏ nhất 10^8 M^{-1}, tốt hơn nữa là nhỏ nhất 10^9 M^{-1}, như nhỏ nhất 10^{12} M^{-1}; và cụ thể là với K_D nhỏ hơn 500nM, tốt hơn là nhỏ hơn 200nM, tốt hơn nữa là nhỏ hơn 10nM, như nhỏ hơn 500pM. Các giá trị K_D và K_A của miền biến đổi đơn

globulin miễn dịch của sáng chế đối với VEGF có thể được xác định. Điều này cũng đúng đối với miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết Ang2 của sáng chế.

Hợp phần gắn kết VEGF paratop kép bao gồm hai hoặc nhiều miền biến đổi đơn globulin miễn dịch hầu như gồm có hoặc bao gồm (i) miền biến đổi đơn globulin miễn dịch thứ nhất gắn kết đặc hiệu với epitop thứ nhất của VEGF và (ii) miền biến đổi đơn globulin miễn dịch thứ hai gắn kết đặc hiệu với epitop thứ hai của VEGF, trong đó epitop thứ nhất của VEGF và epitop thứ hai của VEGF là các epitop không đồng nhất. Nói cách khác, polypeptit của sáng chế bao gồm hoặc hầu như gồm có hai hoặc nhiều miền biến đổi đơn globulin miễn dịch và được định hướng tương phải với ít nhất hai epitop không trùng nhau có mặt trong VEGF, trong đó miền biến đổi đơn globulin miễn dịch được liên kết với nhau theo cách mà chúng có thể gắn kết đồng thời với VEGF. Theo nghĩa này, polypeptit của sáng chế cũng có thể được xem như cấu trúc globulin miễn dịch "có hóa trị hai" hoặc "đa hóa trị" và đặc biệt là "cấu trúc miền biến đổi đơn globulin miễn dịch đa hóa trị", trong đó polypeptit chứa ít nhất hai vị trí gắn kết đối với VEGF. (Các cấu trúc này cũng được gọi là phân tử gắn kết VEGF "được định dạng", ví dụ, các VHH "được định dạng"). Điều này cũng đúng đối với hợp phần gắn kết Ang2 paratop kép, các sửa đổi thích hợp.

Hợp phần gắn kết VEGF hoặc Ang2 của sáng chế lần lượt bao gồm bao gồm (ít nhất) hai miền biến đổi đơn globulin miễn dịch kháng VEGF hoặc Ang2, trong đó tốt hơn là, hai miền biến đổi đơn globulin miễn dịch lần lượt được định hướng tương phản với các epitop không trùng nhau trong phân tử VEGF hoặc phân tử angiopoietin. Do đó, hai miền biến đổi đơn globulin miễn dịch này sẽ có tính đặc hiệu kháng nguyên khác nhau và do đó các trình tự CDR khác nhau. Đối với lý do này, các polypeptit của sáng chế cũng được gọi lần lượt là "polypeptit paratop kép" hoặc "cấu trúc kháng thể miền paratop kép" (nếu miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gồm có hoặc hầu như gồm có kháng thể miền) hoặc "cấu trúc VHH paratop kép" (nếu miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gồm có hoặc hầu như gồm có VHH), do hai miền biến đổi đơn globulin miễn dịch sẽ bao gồm hai paratop khác nhau.

Nếu polypeptit của sáng chế là phân tử paratop kép như được xác định theo sáng chế, ít nhất một trong số các hợp phần miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với epitop sao cho sự tương tác giữa VEGF tái tổ hợp của người và VEGFR-2 tái tổ

hợp của người được phong bế ở tỷ lệ ức chế ≥80%. Như đã được thể hiện trong các thử nghiệm của sáng chế, một số phân tử được định dạng chứa hai VHH mà phong bế thụ thể VEGFR2 ở tỷ lệ ức chế ≥80%. Một số VHH theo sáng chế phong bế VEGFR-2 ở tỷ lệ ức chế 100%, nghĩa là chúng là các chất phong bế hoàn toàn.

Trong cả hai trường hợp, các trình tự và các phần bổ sung có thể có mặt trong hợp phần gắn kết VEGF của sáng chế, ví dụ, được định vị đầu N, đầu C hoặc được định vị giữa hai miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, ví dụ, các trình tự cầu liên kết và các trình tự tạo ra chức năng phản ứng lại kích thích, như được nêu chi tiết hơn theo sáng chế.

Theo phương án khác, mặc dù phương án ít được ưu tiên hơn, hợp phần gắn kết VEGF có thể bao gồm nhiều hơn hai miền biến đổi đơn globulin miễn dịch kháng VEGF, nghĩa là ba, bốn hoặc thậm chí nhiều VHH kháng VEGF. Trong trường hợp này, ít nhất hai trong số nhiều miền biến đổi đơn globulin miễn dịch kháng VEGF được định hướng tương phản với các epitop không trùng nhau trong phân tử VEGF, trong đó miền biến đổi đơn globulin miễn dịch khác bất kỳ có thể gắn kết với bất kỳ trong số hai epitop không trùng nhau và/hoặc epitop khác có mặt trong phân tử VEGF.

Theo sáng chế, hai hoặc nhiều miền biến đổi đơn globulin miễn dịch có thể là, độc lập với nhau, VHH hoặc kháng thể miền và/hoặc loại khác bất kỳ của miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, như các miền VL, như được xác định theo sáng chế, với điều kiện rằng các miền biến đổi đơn globulin miễn dịch này sẽ lần lượt gắn kết kháng nguyên, nghĩa là VEGF hoặc angiopoietin, và nằm trong phạm vi của định nghĩa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3.

Phần mô tả chi tiết các hợp phần gắn kết chủ yếu được mô tả đối với hợp phần gắn kết VEGF. Tuy nhiên, tất cả các dấu hiệu và lựa chọn được nêu ra theo sáng chế đối với hợp phần gắn kết VEGF cũng áp dụng một cách tương đương đối với hợp phần gắn kết Ang2, các sửa đổi thích hợp.

Theo phương án được ưu tiên, các phân tử gắn kết có mặt trong các phân tử gắn kết đặc hiệu kép (phân tử gắn kết Ang2 trong hợp phần gắn kết Ang2 hoặc phân tử gắn kết VEGF trong hợp phần gắn kết VEGF hoặc hai hợp phần gắn kết Ang2 và VEGF liền kề) có thể được kết nối trực tiếp với nhau (nghĩa là mà không cần sử dụng cầu liên kết) hoặc qua cầu liên kết. Tốt hơn là, cầu liên kết là cầu liên kết peptit và sẽ được

chọn để cho phép sự gắn kết của hai phân tử gắn kết khác nhau với mỗi trong trong số các epitop của các đích không trùng nhau, trong một và cùng phân tử đích hoặc trong hai phân tử khác nhau.

Trong trường về các phân tử gắn kết paratop kép, sự lựa chọn các cầu liên kết trong hợp phần gắn kết Ang2 hoặc VEGF, không kể các yếu tố khác, sẽ phụ thuộc vào epitop và tính đặc hiệu, khoảng cách giữa các epitop trên đích mà miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn két và sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này dựa trên phần mô tả của bản mô tả sáng chế này, tùy ý sau một số mức độ giới hạn của thử nghiệm thông thường.

Hai phân tử gắn kết (hai VHH hoặc kháng thể miền hoặc VHH và kháng thể miền) hoặc hai hợp phần gắn kết, có thể được liên kết với nhau lần lượt qua VHH hoặc kháng thể miền bổ sung (trong các phân tử gắn kết này, hai hoặc nhiều miền biến đổi đơn globulin miễn dịch có thể được liên kết trực tiếp với miền biến đổi đơn globulin miễn dịch bổ sung này hoặc qua cầu liên kết thích hợp). VHH hoặc kháng thể miền bổ sung có thể là ví dụ, VHH hoặc kháng thể miền mà tạo ra chu kỳ bán thải gia tăng. Ví dụ VHH hoặc kháng thể miền sau đó có thể là VHH hoặc kháng thể miền mà có khả năng gắn kết với protein huyết thanh (của người) như albumin huyết thanh (của người) hoặc transferin (của người).

Theo cách khác, hai hoặc nhiều miền biến đổi đơn globulin miễn dịch mà gắn kết với đích tương ứng có thể được liên kết theo dãy (trực tiếp hoặc qua cầu liên kết thích hợp) và VHH hoặc kháng thể miền bổ sung (mà có thể tạo ra chu kỳ bán thải gia tăng) có thể được kết nối trực tiếp hoặc cầu liên kết với một trong số hai hoặc nhiều trình tự globulin miễn dịch được nêu trên đây.

Các cầu liên kết thích hợp được mô tả theo sáng chế kết hợp với các polypeptit đặc hiệu của sáng chế và có thể - ví dụ và không giới hạn - bao gồm trình tự axit amin, mà tố hơn là trình tự axit amin có chiều dài 9 hoặc nhiều hơn axit amin, tốt hơn nữa là ít nhất 17 axit amin, như nằm trong khoảng từ 20 đến 40 axit amin. Tuy nhiên, giới hạn trên là không tối ưu nhưng được chọn đối với các lý do liên quan đến sự tiện lợi ví dụ sản xuất sinh dược các polypeptit.

Trình tự cầu liên kết có thể là trình tự có trong tự nhiên hoặc trình tự không có trong tự nhiên. Nếu được sử dụng nhằm mục đích điều trị, tốt hơn là cầu liên kết là

không miễn dịch ở đối tượng mà phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế được dùng.

Một nhóm trình tự cầu liên kết hữu ích là các cầu liên kết có nguồn gốc từ vùng bản lề của kháng thể chuỗi nặng như được mô tả trong WO1996/34103 và WO1994/04678.

Các ví dụ khác là các trình tự cầu liên kết poly-alanin như Ala-Ala-Ala.

Các ví dụ được ưu tiên hơn về các trình tự cầu liên kết là các cầu liên kết Gly/Ser có chiều dài khác nhau như cầu liên kết $(gly_xser_y)_z$, bao gồm $(gly_4ser)_3$, $(gly_4ser)_4$, (gly_4ser), (gly_3ser), gly_3 và $(gly_3ser_2)_3$.

Các ví dụ không giới hạn về các cầu liên kết được chứa trong các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế được thể hiện trong Bảng 15 (SEQ ID NO: từ 128 đến 168), ví dụ, các cầu liên kết

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (35GS; SEQ ID NO:169);

GGGGSGGGS (9GS; SEQ ID NO:170);

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (40GS; SEQ ID NO:171).

Hơn nữa, cầu liên kết cũng có thể là phần poly(etylen glycol), như được mô tả, ví dụ, trong WO2004/081026.

Theo phương án khác, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch được liên kết với nhau qua phần khác (tùy ý qua một hoặc hai cầu liên kết), như polypeptit khác mà, theo phương án được ưu tiên nhưng không chỉ giới hạn ở, có thể là miền biến đổi đơn globulin miễn dịch như được mô tả trên đây. Phần này có thể là hầu như bất hoạt hoặc có thể có tác dụng sinh học như cải thiện các đặc tính mong muốn của polypeptit hoặc có thể tạo ra một hoặc nhiều đặc tính mong muốn bổ sung đối với polypeptit. Ví dụ, và không giới hạn, phần có thể cải thiện chu kỳ bán thải của protein hoặc polypeptit và/hoặc có thể làm giảm tính miễn dịch của nó hoặc cải thiện đặc tính mong muốn khác bất kỳ.

Phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế bao gồm gốc mà kéo dài chu kỳ bán thải của polypeptit của sáng chế trong huyết thanh hoặc dịch thể khác của người bệnh.

Thuật ngữ "chu kỳ bán thải" được xác định là thời gian cần thiết để nồng độ polypeptit (được thay đổi) trong huyết thanh giảm 50%, *in vivo,* ví dụ, do sự thoái biến polypeptit và/hoặc sự thanh thải và/hoặc tạm hấp thụ bởi các cơ chế tự nhiên.

Cụ thể hơn nữa là, gốc kéo dài chu kỳ bán thải được liên kết cộng hóa trị với hoặc được dung hợp với miền biến đổi đơn globulin miễn dịch và là gốc gắn kết albumin, cụ thể là miền biến đổi đơn globulin miễn dịch kháng albumin.

Phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế bao gồm gốc gắn kết với kháng nguyên được tìm thấy trong máu, nghĩa là, albumin huyết thanh, nhờ đó làm tăng chu kỳ bán thải *in vivo* đối với polypeptit thu được của sáng chế. Các gốc này là miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết albumin như miền VHH gắn kết albumin.

Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết albumin này gắn kết với albumin huyết thanh của người và miền VHH gắn kết albumin được được làm tương thích với người.

Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với albumin huyết thanh của người đã được biết trong lĩnh vực này và còn được mô tả chi tiết trong ví dụ WO2006/122786. Đặc biệt là, các VHH gắn kết albumin hữu ích là ALB1 và bản sao được được làm tương thích với người của nó, ALB 8 (WO2009/095489). Tuy nhiên, các miền VHH gắn kết albumin khác được nêu trong công bố sáng chế trên đây, cũng có thể được sử dụng, miễn là chúng nằm trong phạm vi các định nghĩa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3.

Miền VHH gắn kết albumin hữu ích được ưu tiên một cách đặc biệt được nêu trong SEQ ID NO:254.

Theo phương án khác, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch là kháng thể miền, như được xác định theo sáng chế.

Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch có mặt trong các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế cũng có thể có trình tự mà tương ứng với trình tự axit amin của miền VH có trong tự nhiên mà đã được "tạo chuỗi", nghĩa là bằng cách thay thế một hoặc nhiều gốc axit amin trong trình tự axit amin của chuỗi nặng biến đổi có trong tự nhiên từ kháng thể 4 chuỗi thông thường bằng một hoặc nhiều gốc axit amin mà xảy ra ở (các) vị trí tương ứng trong miền VHH của kháng thể chuỗi nặng. Việc này có thể

được thực hiện theo cách đã biết trước, mà sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và tốt hơn là còn được mô tả trong WO1994/04678. Tốt hơn là, sự tạo chuỗi có thể xảy ra ở các vị trí axit amin mà có mặt ở bề mặt chung VH-VL và ở gốc cũng được gọi là Camelidae Hallmark (cũng xem, ví dụ, WO1994/04678). Phần mô tả chi tiết của các kỹ thuật "được làm tương thích với người" và "tạo chuỗi" và ngoài ra, trình tự vùng khung được ưu tiên thích hợp có thể được lấy từ ví dụ trang 46 và trang 98 của WO2006/040153 và trang 107 của WO2006/122786.

Lần lượt là, các hợp phần gắn kết có tính đặc hiệu đối với Ang2 hoặc VEGF, trong đó theo phương án được ưu tiên, chúng bao gồm một hoặc nhiều miền biến đổi đơn globulin miễn dịch lần lượt gắn kết đặc hiệu với một hoặc nhiều epitop trong phân tử Ang2 hoặc trong phân tử VEGF.

Sự gắn kết đặc hiệu của hợp phần gắn kết với Ang2 hoặc VEGF kháng nguyên của nó có thể được xác định theo cách thích hợp bất kỳ đã biết trước, bao gồm, ví dụ, các thử nghiệm được mô tả theo sáng chế, phân tích Scatchard và/hoặc thử nghiệm gắn kết cạnh tranh, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), thử nghiệm miễn dịch enzym (EIA và ELISA) và thử nghiệm cạnh tranh kiểu bánh kẹp và các biến thể khác nhau của nó đã biết trong lĩnh vực này.

Lần lượt, đối với Ang2 hoặc VEGF kháng nguyên, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch không bị giới hạn đến các loài. Do đó, tốt hơn là, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch lần lượt gắn kết với Ang2 của người hoặc VEGF của người, nếu được dự định nhằm mục đích điều trị cho người. Tuy nhiên, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch mà lần lượt gắn kết với Ang2 hoặc VEGF, từ các loài động vật có vú khác hoặc các polypeptit chứa chúng, cũng nằm trong phạm vi của sáng chế miễn là chúng nằm trong các định nghĩa theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3. Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với một dạng Ang2 hoặc VEGF của các loài có thể phản ứng tương đương với kháng nguyên tương ứng từ một hoặc nhiều loài khác. Ví dụ, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với kháng nguyên của người có thể có khả năng phản ứng tương đương với kháng nguyên tương ứng từ một hoặc nhiều loài động vật linh trưởng khác và/hoặc với kháng nguyên từ một hoặc nhiều loài động vật mà được sử dụng trong các mô hình động vật đối với các bệnh, ví dụ, khỉ (cụ thể là Cynomolgus hoặc Rhesus), chuột cống, chuột nhắt, thỏ, lợn, chó

hoặc) và cụ thể là ở các mô hình động vật đối với các bệnh và rối loạn mà có thể được điều biến nhờ sự ức chế Ang2 (như các loài và mô hình động vật được nêu theo sáng chế). Miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của sáng chế mà thể hiện khả năng phản ứng ngang này là có lợi trong nghiên cứu và/hoặc phát triển dược chất, do nó cho phép miền biến đổi đơn globulin miễn dịch của sáng chế được thử nghiệm trong các mô hình bệnh được xác nhận như khỉ, cụ thể là Cynomolgus hoặc Rhesus hoặc chuột cống và chuột nhắt.

Ngoài ra, các hợp phần gắn kết là không bị giới hạn đến hoặc được xác định bởi miền đặc hiệu hoặc yếu tố quyết định kháng nguyên của kháng nguyên mà chúng có thể được định hướng. Tốt hơn là, theo quan điểm về khả năng phản ứng tương đương với một hoặc nhiều phân tử kháng nguyên từ các loài không phải con người mà được dự định để sử dụng làm mô hình động vật trong khi phát triển chất đối kháng Ang2/VEGF điều trị, hợp phần gắn kết nhận biết epitop trong vùng kháng nguyên tương ứng mà có mức độ đồng nhất ở mức cao với kháng nguyên của người. Bằng cách ví dụ, bằng cách sử dụng mô hình chuột, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch kháng Ang2 được chứa trong các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế nhận biết epitop, hoàn toàn hoặc riêng phần, mà được định vị trong miền FLD của Ang2, mà thể hiện sự đồng nhất ở mức cao giữa con người và chuột cống.

Tốt hơn là, hợp phần gắn kết VEGF gắn kết với các đồng đẳng VEGF VEGF165 và/hoặc VEGF121.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến các phân tử axit nucleic mà mã hóa các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế. Các phân tử axit nucleic này cũng sẽ được đề cập theo sáng chế là "axit nucleic của sáng chế" và cũng có thể ở dạng cấu trúc gen, như được xác định theo sáng chế. Axit nucleic của sáng chế có thể là ADN hệ gen, ADN bổ trợ hoặc ADN tổng hợp (như ADN với cách sử dụng codon mà đã được làm thích ứng một cách đặc biệt để biểu hiện trong các tế bào chủ hoặc sinh vật chủ được dự định). Theo một phương án của sáng chế, axit nucleic của sáng chế hầu như ở dạng được phân lập, như được xác định trên đây.

Axit nucleic của sáng chế cũng có thể ở dạng, có thể có mặt trong và/hoặc có thể là một phần của vectơ, như ví dụ plasmit, cosmit hoặc YAC. Vectơ hầu như có thể là vectơ biểu hiện, nghĩa là vectơ mà có thể tạo ra sự biểu hiện của phân tử gắn kết đặc

hiệu *in vitro* và/hoặc *in vivo* (nghĩa là ở tế bào chủ, sinh vật chủ và/hoặc hệ biểu hiện thích hợp). Thông thường, vectơ biểu hiện này bao gồm ít nhất một axit nucleic của sáng chế mà được liên kết chặt chẽ với một hoặc nhiều yếu tố điều chỉnh thích hợp, như (các) đoạn khởi đầu, (các) đoạn tăng cường, (các) đoạn kết thúc và các đoạn tương tự. Các yếu tố này và sự lựa chọn của chúng theo sự biểu hiện của trình tự đặc hiệu trong vật chủ đặc hiệu là sự hiểu biết thông thường của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các ví dụ cụ thể về các yếu tố điều chỉnh và các yếu tố khác hữu ích hoặc cần thiết để biểu hiện các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế, như các đoạn khởi đầu, các đoạn tăng cường, các đoạn kết thúc, các yếu tố tích hợp, các đoạn đánh dấu chọn lọc, các trình tự dẫn đầu, các gen thông báo và tương tự, được mô tả ví dụ ở các trang từ 131 đến 133 của WO2006/040153.

Axit nucleic của sáng chế có thể được tạo ra hoặc thu được theo cách đã biết trước (ví dụ bằng tổng hợp ADN tự động và/hoặc kỹ thuật ADN tái tổ hợp), dựa trên các thông tin trên các trình tự axit amin đối với polypeptit của sáng chế được mô tả ở đây và/hoặc có thể được phân lập từ nguồn tự nhiên thích hợp.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến tế bào chủ mà biểu hiện hoặc có khả năng biểu hiện một hoặc nhiều phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế; và/hoặc chứa axit nucleic của sáng chế. Theo phương án được ưu tiên một cách đặc biệt, các tế bào chủ này là các tế bào vi khuẩn; các tế bào hữu ích khác là tế bào nấm men, tế bào nấm hoặc tế bào động vật có vú.

Các tế bào vi khuẩn thích hợp bao gồm các tế bào từ các chủng vi khuẩn gam âm như các chủng *Escherichia coli*, *Proteus* và *Pseudomonas* và các chủng vi khuẩn gam dương như các chủng *Bacillus*, *Streptomyces*, *Staphylococcus* và *Lactococcus*. Tế bào nấm thích hợp bao gồm các tế bào từ các loài *Trichoderma*, *Neurospora* và *Aspergillus*. Các tế bào nấm men thích hợp bao gồm các tế bào từ các loài *Saccharomyces* (ví dụ *Saccharomyces cerevisiae*), *Schizosaccharomyces* (ví dụ *Schizosaccharomyces pombe*), *Pichia* (ví dụ *Pichia pastoris* và *Pichia methanolica*) và *Hansenula*.

Các tế bào của động vật có vú thích hợp bao gồm, ví dụ, tế bào CHO, tế bào BHK, tế bào HeLa, tế bào COS và các tế bào tương tự. Tuy nhiên, các tế bào của động

vật lưỡng cư, tế bào côn trùng, tế bào thực vật và các tế bào khác bất kỳ được sử dụng trong lĩnh vực này để biểu hiện các protein khác loại cũng có thể được sử dụng.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp sản xuất phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế, phương pháp này thường bao gồm các bước:

- nuôi cấy tế bào chủ bao gồm axit nucleic có khả năng mã hóa phân tử gắn kết đặc hiệu trong các điều kiện mà cho phép biểu hiện phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế; và

- thu hồi hoặc phân lập polypeptit được biểu hiện bởi tế bào chủ từ môi trường nuôi cấy; và

- tinh chế tiếp một cách tùy ý và/hoặc làm thay đổi và/hoặc tạo ra phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế.

Để sản xuất trên quy mô công nghiệp, các sinh vật chủ được ưu tiên bao gồm các chủng *E. coli*, *Pichia pastoris* và *S. cerevisiae* mà thích hợp để biểu hiện, sản xuất và lên men trên quy mô lớn và cụ thể là để biểu hiện, sản xuất và lên men dược phẩm trên quy mô lớn.

Sự lựa chọn hệ biểu hiện đặc hiệu phụ thuộc vào phần yêu cầu đối với một số thay đổi sau dịch mã, cụ thể hơn nữa là glycosyl hóa. Sự sản xuất phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế mà trong đó glycosyl hóa được mong muốn hoặc yêu cầu sẽ cần phải sử dụng các vật chủ biểu hiện động vật có vú mà có khả năng glycosyl hóa protein được biểu hiện. Về vấn đề này, sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này rằng mẫu glycosyl hóa thu được (nghĩa là loại, số lượng và vị trí các gốc được gắn vào) sẽ phụ thuộc vào tế bào hoặc dòng tế bào mà được sử dụng để biểu hiện.

Các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế có thể được tạo ra ở tế bào như được nêu trên đây trong tế bào (ví dụ trong dịch tế bào, trong chất bao hoặc trong thể vùi) và sau đó được phân lập từ tế bào chủ và tùy ý được tinh chế tiếp; hoặc chúng có thể được tạo ra về mặt ngoại bào (ví dụ trong môi trường, trong đó tế bào chủ được nuôi cấy) và sau đó được phân lập từ môi nuôi cấy và tùy ý được tinh chế tiếp.

Các phương pháp và chất phản ứng được sử dụng để sản xuất polypeptit tái tổ hợp, như các vectơ biểu hiện thích hợp đặc hiệu, các phương pháp biến nạp hoặc

chuyển nhiễm, các đoạn đánh dấu chọn lọc, các phương pháp gây biểu hiện protein, các điều kiện nuôi cấy và tương tự, đã được biết trong lĩnh vực này. Tương tự, các kỹ thuật phân lập và tinh chế protein hữu ích trong phương pháp sản xuất polypeptit của sáng chế đã được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Sáng chế còn đề cập đến sản phẩm hoặc chế phẩm chứa hoặc bao gồm ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế và tùy ý một hoặc nhiều hợp phần khác của chế phẩm này đã biết trước, nghĩa là phụ thuộc vào việc sử dụng chế phẩm được dự định.

Để sử dụng làm dược phẩm, phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế có thể được bào chế thành dược phẩm hoặc chế phẩm bao gồm ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế và ít nhất một chất mang dược dụng, chất pha loãng hoặc chất phụ trợ và/hoặc tá dược và tùy ý một hoặc nhiều polypeptit và/hoặc hợp chất có hoạt tính dược khác. Theo các ví dụ không giới hạn, chế phẩm có thể ở dạng thích hợp để dùng qua đường miệng, để dùng ngoài đường tiêu hóa (như bằng cách tiêm trong tĩnh mạch, trong cơ hoặc dưới da hoặc truyền trong tĩnh mạch), để dùng cục bộ, để dùng bằng cách xông, bằng miếng đắp da, bằng cấy dưới da, bằng thuốc đạn, v.v. Các dạng dùng thích hợp này - có thể là các dạng rắn, bán rắn hoặc dạng lỏng, phụ thuộc vào cách dùng - cũng như các phương pháp và chất mang để sử dụng trong bào chế chúng, sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và còn được mô tả theo sáng chế.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu kép, cụ thể là một miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, của sáng chế và ít nhất một chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược thích hợp (nghĩa là thích hợp để sử dụng trong dược phẩm) và tùy ý một hoặc nhiều hoạt chất khác.

Các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế có thể được bào chế và được dùng theo cách thích hợp đã biết trước: Tham chiếu, cụ thể là đối với miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, ví dụ, được thực hiện đối với WO2004/041862, WO2004/041863, WO2004/041865, WO2004/041867 và WO2008/020079, cũng như đến tài liệu hướng dẫn tiêu chuẩn, như Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing Company, USA (1990), Remington, the Science and Practice of Pharmacy, 21th Edition, Lippincott Williams and Wilkins (2005); hoặc Handbook of Therapeutic

Antibodies (S. Dubel, Ed.), Wiley, Weinheim, 2007 (xem, ví dụ, các trang từ 252 đến 255).

Ví dụ, phân tử gắn kết của sáng chế có thể được bào chế và được dùng theo cách bất kỳ đã biết trước đối với các kháng thể thông thường và các mảnh kháng thể (bao gồm ScFv và các kháng thể) và protein có hoạt tính dược khác. Các chế phẩm và phương pháp để bào chế chúng sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và ví dụ bao gồm các chế phẩm thích hợp để dùng người đường tiêu hóa (ví dụ dùng trong tĩnh mạch, dùng trong bụng, dùng dưới da, dùng trong cơ, dùng trong nội mạch, dùng trong động mạch hoặc trong nội tủy mạc) hoặc dùng cục bộ (nghĩa là qua da hoặc trong da).

Các chế phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa có thể là ví dụ dung dịch tiệt trùng, huyền phù, chất phân tán hoặc nhũ tương mà thích hợp để tiêm hoặc truyền. Các chất mang hoặc chất pha loãng thích hợp đối với các chế phẩm này ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, nước tiệt trùng và chất đệm trong nước dược dụng và các dung dịch như nước muối đệm phosphat sinh lý, dung dịch Ringer, dung dịch dextroza và dung dịch Hank; dầu trong nước; glyxerol; etanol; glycol như propylen glycol hoặc cũng như các dầu khoáng, các dầu động vật và dầu thực vật, ví dụ, dầu lạc, dầu đậu nành, cũng như các hỗn hợp thích hợp của nó. Thông thường, các dung dịch trong nước hoặc huyền phù sẽ được ưu tiên.

Do đó, phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế có thể được dùng hệ thống, ví dụ, qua đường miệng, kết hợp với tá dược dạng lỏng dược dụng như chất pha loãng trơ hoặc chất mang ăn được có thể đồng hóa. Để dùng điều trị qua đường miệng, phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế có thể được kết hợp với một hoặc nhiều tá dược và được sử dụng ở dạng viên nén ăn được, viên nén dùng trong miệng, viên thuốc ngậm, viên nang, cồn ngọt, huyền phù, xi-rô, viên nhện và tương tự. Các dược phẩm và dạng chế phẩm sẽ chứa ít nhất 0,1% phân tử gắn kết của sáng chế. Tỷ lệ phần trăm của chúng trong dược phẩm và dạng chế phẩm, tất nhiên, sẽ thay đổi và thông thường có thể nằm trong khoảng từ 2 đến 60% trọng lượng dạng liều đơn vị đã nêu. Lượng phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế trong chế phẩm hữu ích để điều trị là lượng mà sẽ thu được mức độ liều hiệu quả.

Viên nén, viên tròn, viên nang và tương tự cũng có thể chứa chất gắn kết, tá dược, chất gây phân rã, chất bôi trơn và chất tạo ngọt hoặc chất tạo hương, ví dụ, các chất được nêu ở các trang từ 143 đến 144 của WO2008/020079. Khi dạng liều đơn vị là viên nang, dạng liều này có thể chứa, ngoài các nguyên liệu thuộc loại trên đây, chất mang dạng lỏng, như dầu thực vật hoặc polyetylen glycol. Các nguyên liệu khác nhau khác có thể có mặt như chất bao ngoài hoặc theo cách khác làm thay đổi dạng vật lý của dạng liều đơn vị dạng rắn. Ví dụ, viên nén, viên tròn hoặc viên nang có thể được bao ngoài bằng gelatin, sáp, sen-lắc hoặc đường và các chất tương tự. Xi-rô hoặc cồn ngọt có thể chứa các phân tử gắn kết của sáng chế, sucroza hoặc fructoza làm chất tạo ngọt, metyl và propylparaben làm chất bảo quản, thuốc nhuộm và chất tạo hương như hương anh đào hoặc hương cam. Tất nhiên, nguyên liệu bất kỳ được sử dụng trong bào chế dạng liều đơn vị bất kỳ sẽ là dược dụng và hầu như là không độc với lượng được dùng. Ngoài ra, các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế có thể được kết hợp vào chế phẩm và thiết bị giải phóng duy trì.

Các dạng chế phẩm và dược phẩm để dùng qua dường miệng cũng có thể được bào chế với chất bao ngoài dùng trong ruột mà sẽ cho phép các cấu trúc của sáng chế kháng môi trường trong dạ dày và đi vào trong ruột. Thông thường hơn là, các dược phẩm và dạng chế phẩm để dùng qua đường miệng có thể được bào chế thích hợp để phân phối vào phần mong muốn bất kỳ của đường dạ dày-ruột. Ngoài ra, các viên thuốc đạn thích hợp có thể được sử dụng để phân phối vào đường dạ dày-ruột.

Các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế cũng có thể được dùng trong tĩnh mạch hoặc trong bụng bằng cách tiêm hoặc truyền, như được mô tả tiếp ở các trang 144 và 145 của WO2008/020079.

Để dùng cục bộ các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế, thông thường sẽ mong muốn dùng chúng cho da như dược phẩm hoặc dạng chế phẩm, kết hợp với chất mang dùng ngoài da, mà có thể là dạng rắn hoặc dạng lỏng, như được mô tả tiếp ở trang 145 của công bố đơn quốc tế số WO2008/020079.

Thông thường, nồng độ của các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế trong chế phẩm dạng lỏng, như thuốc xức dùng ngoài da, sẽ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 25% trọng lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10% trọng lượng. Nồng độ

trong chế phẩm dạng bán rắn hoặc dạng rắn như gel hoặc bột sẽ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 5% trọng lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2,5% trọng lượng.

Lượng phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế cần để sử dụng trong điều trị sẽ thay đổi không chỉ với phân tử gắn kết cụ thể được chọn, mà còn cả với đường dùng, bản chất của tình trạng bệnh được điều trị và tuổi và tình trạng bệnh của người bệnh và cuối cùng là sẽ theo ý muốn của bác sỹ điều trị hoặc bác sỹ lâm sàng. Ngoài ra, liều phân tử gắn kết của sáng chế thay đổi phụ thuộc vào tế bào, khối u, mô, mảnh ghép hoặc cơ quan đích.

Thông thường, liều mong muốn có thể được thể hiện theo liều đơn hoặc liều được chia được dùng ở khoảng thời gian thích hợp, ví dụ, hai, ba, bốn hoặc nhiều phân liều/ngày. Chính bản thân phân liều này còn có thể được chia, ví dụ, thành nhiều lần dùng cách nhau rời rạc; như nhiều lần xông từ khí cụ bơm hoặc bằng cách dùng nhiều giọt vào mắt.

Chế độ dùng có thể bao gồm việc điều trị hàng ngày lâu dài. Thuật ngữ "lâu dài" có nghĩa là khoảng thời gian ít nhất hai tuần và tốt hơn là, vài tuần, hằng tháng hoặc hằng năm. Các thay đổi cần thiết trong khoảng liều này có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này bằng cách sử dụng thử nghiệm thông thường được mô tả theo sáng chế. Xem, Remington's Pharmaceutical Sciences (Martin, E.W., ed. 4), Mack Publishing Co., Easton, PA. Liều cũng có thể được điều chỉnh bởi bác sỹ riêng rẽ trong trường hợp biến chứng bất kỳ.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến việc sử dụng các phân tử gắn kết đặc hiệu kép, ví dụ, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch, nhằm mục đích điều trị, như:

- để phòng ngừa, điều trị và/hoặc làm thuyên giảm rối loạn, bệnh hoặc tình trạng bệnh, cụ thể là ở người, có liên quan đến các tác dụng qua trung gian VEGF và/hoặc Ang2 đối với sự hình thành mạch hoặc có thể được phòng ngừa, điều trị hoặc được làm giảm bằng cách điều biến con đường tạo tín hiệu Notch và/hoặc con đường tạo tín hiệu Tie2 với phân tử gắn kết đặc hiệu kép theo sáng chế,

- trong phương pháp điều trị cho người bệnh cần điều trị, phương pháp này bao gồm cho đối tượng cần điều trị, dùng lượng có hoạt tính dược của ít nhất một phân tử

gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế, ví dụ, miền biến đổi đơn globulin miễn dịch hoặc dược phẩm chứa chúng;

- để bào chế thuốc để phòng ngừa, điều trị hoặc làm thuyên giảm rối loạn, bệnh hoặc tình trạng bệnh có liên quan đến tác dụng qua trung gian VEGF và/hoặc Ang2 đối với sự hình thành mạch;

- làm hoạt chất trong dược phẩm hoặc thuốc được sử dụng cho các mục đích trên đây.

Theo khía cạnh cụ thể, rối loại, bệnh hoặc tình trạng bệnh là bệnh ung thư hoặc bệnh liên quan đến ung thư, như được xác định theo sáng chế.

Theo khía cạnh khác, bệnh là bệnh về mắt có liên quan đến các tác dụng qua trung gian VEGF và/hoặc Ang2 đối với sự hình thành mạch hoặc có thể được điều trị hoặc làm giảm bằng cách điều biến con đường tạo tín hiệu Notch bằng phân tử gắn kết đặc hiệu.

Tùy thuộc vào bệnh liên quan đến ung thư cần điều trị, phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế có thể được sử dụng đối với chính nó hoặc kết hợp với một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung, cụ thể là được chọn từ các chất hóa học trị liệu tương tự các chất làm tổn hại ADN hoặc các hoạt chất điều trị mà ức chế sự hình thành mạch, con đường truyền tín hiệu hoặc điểm kiểm tra phân bào ở các tế bào ung thư.

Chất điều trị bổ sung có thể được dùng đồng thời với, tùy ý như hợp phần của cùng dược phẩm hoặc trước hoặc sau khi dùng phân tử gắn kết.

Theo một số phương án, chất điều trị bổ sung có thể là, nhưng không giới hạn (và trong trường hợp về các thụ thể, bao gồm các phối tử tương ứng), một hoặc nhiều chất ức chế được chọn từ nhóm gồm các chất ức chế EGFR, VEGFR, HER2-neu, Her3, AuroraA, AuroraB, PLK và PI3 kinaza, FGFR, PDGFR, Raf, Ras, KSP, PDK1, PTK2, IGF-R hoặc IR.

Các ví dụ khác về các chất điều trị bổ sung là các chất ức chế CDK, Akt, src/bcr abl, cKit, cMet/HGF, c-Myc, Flt3, HSP90, chất đối kháng hedgehog, chất ức chế JAK/STAT, MEK, mTor, NFkappaB, proteasom, Rho, chất ức chế tạo tín hiệu wnt hoặc chất ức chế con đường ubiquitin hóa hoặc chất ức chế khác của con đường tạo tín hiệu Notch.

Các ví dụ đối với các chất ức chế Aurora là, nhưng không chỉ giới hạn ở, PHA-739358, AZD-1152, AT 9283, CYC-116, R-763, VX-680, VX-667, MLN-8045, PF-3814735.

Ví dụ đối với chất ức chế PLK là GSK-461364.

Các ví dụ đối với các chất ức chế raf là BAY-73-4506 (cũng là chất ức chế VEGFR), PLX 4032, RAF-265 (ngoài ra, cũng là chất ức chế VEGFR), sorafenib (ngoài ra, cũng là chất ức chế VEGFR) và XL 281.

Các ví dụ đối với các chất ức chế KSP là ispinesib, ARRY-520, AZD-4877, CK-1122697, GSK 246053A, GSK-923295, MK-0731 và SB-743921.

Các ví dụ đối với các chất ức chế src và/hoặc bcr-abl là dasatinib, AZD-0530, bosutinib, XL 228 (cũng là chất ức chế IGF-1R), nilotinib (cũng là chất ức chế PDGFR và cKit), imatinib (cũng là chất ức chế cKit) và NS-187.

Ví dụ đối với chất ức chế PDK1 là BX-517.

Ví dụ đối với chất ức chế Rho là BA-210.

Các ví dụ đối với các chất ức chế PI3 kinaza là PX-866, BEZ-235 (cũng là chất ức chế mTor), XL 418 (cũng là chất ức chế Akt), XL-147 và XL 765 (cũng là chất ức chế mTor).

Các ví dụ đối với các chất ức chế cMet hoặc HGF là XL-184 (cũng là chất ức chế VEGFR, cKit, Flt3), PF-2341066, MK-2461, XL-880 (cũng là chất ức chế VEGFR), MGCD-265 (cũng là chất ức chế VEGFR, Ron, Tie2), SU-11274, PHA-665752, AMG-102 và AV-299.

Ví dụ đối với chất ức chế c-Myc là CX-3543.

Các ví dụ đối với chất ức chế Flt3 là AC-220 (cũng là chất ức chế cKit và PDGFR), KW 2449, lestaurtinib (cũng là chất ức chế VEGFR, PDGFR, PKC), TG-101348 (cũng là chất ức chế JAK2), XL-999 (cũng là chất ức chế cKit, FGFR, PDGFR và VEGFR), sunitinib (cũng là chất ức chế PDGFR, VEGFR và cKit) và tandutinib (cũng là chất ức chế PDGFR và cKit).

Các ví dụ đối với các chất ức chế HSP90 là tanespimyxin, alvespimyxin, IPI-504 và CNF 2024.

Các ví dụ đối với các chất ức chế JAK/STAT là CYT-997 (cũng tương tác với tubulin), TG 101348 (cũng là chất ức chế Flt3) và XL-019.

Các ví dụ đối với các chất ức chế MEK là ARRY-142886, PD-325901, AZD-8330 và XL 518.

Các ví dụ đối với các chất ức chế mTor là temsirolimus, AP-23573 (mà cũng có tác dụng như các chất ức chế VEGF), everolimus (ngoài ra, cũng là chất ức chế VEGF). XL-765 (cũng là chất ức chế PI3 kinaza) và BEZ-235 (cũng là chất ức chế PI3 kinaza).

Các ví dụ đối với các chất ức chế Akt là perifosin, GSK-690693, RX-0201 và triciribin.

Các ví dụ đối với các chất ức chế cKit là AB-1010, OSI-930 (cũng có tác dụng làm chất ức chế VEGFR), AC-220 (cũng là chất ức chế Flt3 và PDGFR), tandutinib (cũng là chất ức chế Flt3 và PDGFR), axitinib (cũng là chất ức chế VEGFR và PDGFR), XL-999 (cũng là chất ức chế Flt3, PDGFR, VEGFR, FGFR), sunitinib (cũng là chất ức chế Flt3, PDGFR, VEGFR) và XL-820 (cũng có tác dụng như chất ức chế VEGFR và PDGFR), imatinib (cũng là chất ức chế bcr-abl), nilotinib (cũng là chất ức chế bcr-abl và PDGFR).

Các ví dụ đối với chất đối kháng hedgehog là IPI-609 và CUR-61414.

Các ví dụ đối với các chất ức chế CDK là seliciclib, AT-7519, P-276, ZK-CDK (cũng ức chế VEGFR2 và PDGFR), PD-332991, R-547, SNS-032, PHA-690509 và AG 024322.

Các ví dụ đối với chất ức chế proteasom là bortezomib, carfilzomib và NPI-0052 (cũng là chất ức chế NFkappaB).

Ví dụ đối với chất ức chế con đường NFkappaB là NPI-0052.

Ví dụ đối với chất ức chế con đường ubiquitin hóa là HBX-41108.

Theo các phương án được ưu tiên, chất điều trị bổ sung là chất chống hình thành mạch.

Các ví dụ đối với các chất chống hình thành mạch là các chất ức chế FGFR, PDGFR và VEGFR hoặc phối tử tương ứng (ví dụ, các chất ức chế VEGF tương tự

pegaptanib hoặc kháng thể bevacizumab kháng VEGF), các chất ức chế EGFL7, như Mab kháng EGFL7, các chất ức chế angiopoietin1/2 như AMG386 và thalidomit, các chất này được chọn từ, nhưng không chỉ giới hạn ở, bevacizumab, motesanib, CDP-791, SU-14813, telatinib, KRN-951, ZK-CDK (cũng là chất ức chế CDK), ABT-869, BMS-690514, RAF-265, IMC-KDR, IMC-18F1, các IMiD (các dược chất điều biến miễn dịch), dẫn xuất thalidomit CC-4047, lenalidomit, ENMD 0995, IMC-D11, Ki 23057, brivanib, cediranib, XL-999 (cũng là chất ức chế cKit và Flt3), 1B3, CP 868596, IMC 3G3, R-1530 (cũng là chất ức chế Flt3), sunitinib (cũng là chất ức chế cKit và Flt3), axitinib (cũng là chất ức chế cKit), lestaurtinib (cũng là chất ức chế Flt3 và PKC), vatalanib, tandutinib (cũng là chất ức chế Flt3 và cKit), pazopanib, GW 786034, PF-337210, IMC-1121B, AVE-0005, AG-13736, E-7080, CHIR 258, sorafenib tosylat (cũng là chất ức chế Raf), RAF-265 (cũng là chất ức chế Raf), vandetanib, CP-547632, OSI-930, AEE-788 (cũng là chất ức chế EGFR và Her2), BAY-57-9352 (cũng là chất ức chế Raf), BAY-73-4506 (cũng là chất ức chế Raf), XL 880 (cũng là chất ức chế cMet), XL-647 (cũng là chất ức chế EGFR và EphB4), XL 820 (cũng là chất ức chế cKit) và nilotinib (cũng là chất ức chế cKit và brc-abl).

Chất điều trị bổ sung cũng có thể được chọn từ các chất ức chế EGFR, có thể là chất ức chế EGFR phân tử nhỏ hoặc kháng thể kháng EGFR. Các ví dụ đối với kháng thể kháng EGFR, nhưng không chỉ giới hạn ở, là cetuximab, panitumumab, matuzumab; ví dụ đối với chất ức chế EGFR phân tử nhỏ là gefitinib. Ví dụ khác đối với chất điều biến EGFR là độc tố dung hợp EGF.

Trong số các chất ức chế EGFR và Her2 hữu ích để kết hợp với phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế là lapatinib, gefitinib, erlotinib, cetuximab, trastuzumab, nimotuzumab, zalutumumab, vandetanib (cũng là chất ức chế VEGFR), pertuzumab, XL-647, HKI-272, BMS-599626 ARRY-334543, AV 412, mAB-806, BMS-690514, JNJ-26483327, AEE-788 (cũng là chất ức chế VEGFR), ARRY-333786, IMC-11F8, Zemab.

Các chất khác cũng có thể được kết hợp một cách thuận lợi trong liệu pháp điều trị với phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế là tositumumab và ibritumomab tiuxetan (hai kháng thể kháng CD20 được đánh dấu phóng xạ), alemtuzumab (kháng thể kháng CD52), denosumab, (chất ức chế phối tử yếu tố biệt hóa tế bào hủy xương), galiximab (chất đối kháng CD80), ofatumumab (chất ức chế CD20), zanolimumab (chất đối kháng CD4), SGN40 (chất điều biến thụ thể phối tử CD40), rituximab (chất

ức chế CD20), mapatumumab (chất chủ vận thụ thể TRAIL-1), REGN421(SAR153192) hoặc OMP-21M18 (chất ức chế Dll4).

Các dược chất hóa học trị liệu khác mà có thể được sử dụng kết hợp với phân tử gắn kết đặc hiệu của sáng chế được chọn từ, nhưng không chỉ giới hạn ở các hoóc môn, các chất tương tự hoóc môn và kháng hoóc môn (ví dụ tamoxifen, toremifen, raloxifen, fulvestrant, megestrol axetat, flutamit, nilutamit, bicalutamit, xyproteron axetat, finasterit, buserelin axetat, fludrocortison, fluoxymesteron, medroxyprogesteron, octreotit, arzoxifen, pasireotit, vapreotit), các chất ức chế aromataza (ví dụ anastrozol, letrozol, liarozol, exemestan, atamestan, formestan), các chất chủ vận và các chất đối kháng LHRH (ví dụ goserelin axetat, leuprolit, abarelix, cetrorelix, deslorelin, histrelin, triptorelin), các chất chống trao đổi chất (ví dụ kháng folat tương tự methotrexat, pemetrexed, các chất tương tự pyrimidin như 5 flouraxil, capexitabin, dexitabin, nelarabin và gemxitabin, purin và các chất tương tự adenosin như mercaptopurin thioguanin, cladribin và pentostatin, xytarabin, fludarabin); các thuốc kháng sinh kháng khối u (ví dụ anthraxyclin tương tự doxorubixin, daunorubixin, epirubixin và idarubixin, mitomyxin-C, bleomyxin dactinomyxin, plicamyxin, mitoxantron, pixantron, streptozoxin); các dẫn xuất platin (ví dụ cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, lobaplatin, satraplatin); các chất alkyl hóa (ví dụ estramustin, meclorethamin, melphalan, chlorambuxil, busulphan, dacarbazin, xyclophosphamit, ifosfamit, hydroxyure, temozolomit, nitrosoure như carmustin và lomustin, thiotepa); các chất chống phân bào (ví dụ vinca alkaloit tương tự vinblastin, vindesin, vinorelbin, vinflunin và vincristin; và các taxan tương tự paclitaxel, docetaxel và các chế phẩm chứa chúng, larotaxel; simotaxel và các epothilon tương tự ixabepilon, patupilon, ZK-EPO); các chất ức chế topoisomeraza (ví dụ epipodophyllotoxin tương tự etoposit và etopophos, teniposit, amsacrin, topotecan, irinotecan) và các chất hóa học trị liệu hỗn hợp như amifostin, anagrelit, interferon alpha, procarbazin, mitotan và porfimer, bexaroten, celecoxib.

Hiệu quả của phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế hoặc polypeptit và các chế phẩm chứa chúng, có thể được thử nghiệm bằng cách sử dụng thử nghiệm *in vitro* thích hợp bất kỳ, thử nghiệm trên tế bào, thử nghiệm *in vivo* và/hoặc mô hình động vật đã biết hoặc kết hợp bất kỳ của chúng, phụ thuộc vào bệnh cụ thể hoặc rối loạn quan tâm. Các thử nghiệm và các mô hình động vật thích hợp sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và ví dụ bao gồm các thử nghiệm được mô tả

theo sáng chế và được sử dụng trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây, ví dụ, thử nghiệm tăng sinh tế bào.

Các dữ liệu thu được trong các thử nghiệm của sáng chế xác nhận rằng các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế có các đặc tính tốt hơn các đặc tính của các phân tử gắn kết của lĩnh vực này. Trong số các đặc tính này là ức chế hoàn toàn sự tương tác VEGF165-VEGFR2 và IC_{50} thấp, ví dụ, như có thể được lấy từ các dữ liệu ELISA của Fig.1 và Bảng 5 cũng như các giá trị IC_{50} (nM) đối với VHH trong thử nghiệm AlphaScreen như được thể hiện trong các Fig.3, 17, 18 và Bảng 7; và ái lực K_D (nM) của VHH được tinh chế đối với VEGF tái tổ hợp của người và VEGF của chuột trong Bảng 9, 10 và Fig.5. Ngoài ra, như được thể hiện trong Bảng 13, các chất gắn kết VEGF của sáng chế có hiệu lực cao, nghĩa là nằm trong khoảng dưới nanomol, trong thử nghiệm tăng sinh tế bào HUVEC. Điều này cho biết rằng các phân tử gắn kết đặc hiệu kép của sáng chế là các ứng cử viên đầy triển vọng có hiệu quả điều trị bệnh và rối loạn có liên quan đến các tác dụng qua trung gian VEGF đối với sự hình thành mạch, như bệnh ung thư.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Nguyên liệu và phương pháp

a) Sản xuất và thử nghiệm chức năng của VEGF109

ADN bổ trợ mã hóa miền gắn kết thụ thể của đồng đẳng yếu tố phát triển nội mô của người VEGF165 (GenBank: AAM03108.1; các gốc AA từ 27 đến 135) được tạo dòng vô tính vào vectơ pET28a (Novagen, Madison, WI) và được biểu hiện quá mức ở E.coli (BL21 Star DE3) như protein không hòa tan được His-tag. Sự biểu hiện được cảm biến bằng cách bổ sung 1mM IPTG vào và được cho phép tiếp tục trong 4 giờ ở 37°C. Thu hoạch các tế bào bằng cách ly tâm và làm tan bằng cách siêu âm hạt tế bào. Tách các thể vùi bằng cách ly tâm. Sau bước rửa bằng Triton 1% X 100 (Sigma-Aldrich), hòa tan các protein bằng cách sử dụng 7,5M guanidin hydroclorua và được gấp lại lần nữa bằng các vòng thẩm tách qua đêm liên tục bằng cách sử dụng các chất đệm để làm giảm nồng độ ure từ 6M đến 0M. Tinh chế protein được gấp lại này bằng cách sắc ký trao đổi ion bằng cách sử dụng cột MonoQ5/50GL (Amersham BioSciences) tiếp theo bằng cách lọc gel bằng cột Superdex75 10/300 GL (Amersheim BioSciences). Độ tinh khiết và độ đồng nhất của protein được xác nhận bởi SDS-PAGE và điểm Westen. Ngoài ra, hoạt tính gắn kết với VEGFR1, VEGFR2 và Bevacizumab được kiểm soát bởi ELISA. Để kết thúc, giữ cố định 1µg/mL VEGF 109

tái tổ hợp của người qua đêm ở 4°C trong đĩa 96 giếng MaxiSorp (Nunc, Wiesbaden, Germany). Phong bế các giếng này bằng dung dịch cazein (1%). Bổ sung pha loãng theo dãy gồm VEGFR1, VEGFR2 hoặc Bevacizumab vào đĩa được phủ VEGF109 và phát hiện sự gắn kết bằng cách sử dụng phosphataza kiềm (AP) được tiếp hợp IgG dê kháng người, Fc đặc hiệu (Jackson Immuno Research Laboratories Inc., West Grove, PA, USA) và phản ứng enzym tiếp theo với sự có mặt của chất nền PNPP (p-nitrophenylphosphat) (Sigma-Aldrich). VEGF109 có thể gắn kết với VEGFR1, VEGFR2 và Bevacizumab, cho biết rằng VEGF109 được tạo ra có hoạt tính.

b) Sự tiếp hợp KLH của VEGF165 và thử nghiệm chức năng của VEGF165 được tiếp hợp KLH

VEGF 165 tái tổ hợp của người (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) được tiếp hợp với hymoxyanin lỗ khóa hình sao biển (mcKLH) bằng cách sử dụng kit Imject Immunogen EDC với mcKLH (Pierce, Rockford, IL, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sự tiếp hợp hiệu quả của polypeptit với mcKLH được xác nhận bởi SDS-PAGE. Chức năng của protein được tiếp hợp được kiểm tra bởi ELISA: giữ cố định 2µg/mL VEGF165 được tiếp hợp KLH qua đêm ở 4°C trong đĩa 96 giếng MaxiSorp (Nunc, Wiesbaden, Germany). Phong bế các giếng này bằng dung dịch cazein (1%). Bổ sung pha loãng theo dãy gồm VEGFR1 hoặc VEGFR2 vào và phát hiện sự gắn kết bằng cách sử dụng IgG dê kháng người được tiếp hợp peroxidaza cây cải ngựa (HRP), Fc đặc hiệu (Jackson Immuno Research Laboratories Inc., West Grove, PA, USA) và phản ứng enzym tiếp theo với sự có mặt của chất nền TMB (3,3',5,5'-tetramentylbenzidin) (Pierce, Rockford, IL, USA). Protein được tiếp hợp KLH vẫn có thể tương tác với VEGFR1, VEGFR2 và Bevacizumab, xác nhận rằng epitop liên quan đối với VEGF165 vẫn có thể sử dụng được.

Ví dụ 1. Gây miễn dịch bằng các dạng VEGF khác nhau gây đáp ứng miễn dịch thể dịch ở lạc đà không bướu

1.1 Gây miễn dịch

Sau khi có sự chấp thuận của Ủy ban đạo đức của khoa Thuốc thú y (University Ghent, Belgium), 4 con lạc đà không bướu (được ký hiệu là các số 264, 265, 266, 267) được gây miễn dịch theo các phương pháp tiêu chuẩn với 6 lần tiêm trong cơ (100 hoặc 50µg/liều ở khoảng thời gian hàng tuần) VEGF 109 tái tổ hợp của người. Lần tiêm thứ nhất vào ngày 0 được bào chế trong Tá dược Freund hoàn chỉnh (Difco, Detroit, MI, USA), trong khi các lần tiêm tiếp theo được bào chế trong Tá dược

Freund không hoàn chỉnh (Difco, Detroit, MI, USA). Ngoài ra, bốn con lạc đà không bướu (được ký hiệu là các số 234, 235, 280 và 281) được gây miễn dịch theo quy trình sau đây: 5 lần tiêm trong cơ bằng VEGH165 của người được tiếp hợp KLH (100 hoặc 50 µg/liều ở khoảng thời gian hàng hai tuần) tiếp theo bởi 4 lần tiêm trong cơ VEGF109 của người (liều thứ nhất là 100µg tiếp theo 2 tuần sau đó bằng ba 50µg/liều ở khoảng thời gian hàng tuần).

1.2 Đánh giá đáp ứng miễn dịch do VEGF gây ra ở lạc đà không bướu

Để kiểm tra các độ chuẩn huyết thanh đặc hiệu VEGF, thử nghiệm ELISA được thiết lập, trong đó 2µg/mL VEGF165 hoặcVEGF 109 tái tổ hợp của người được giữ cố định qua đêm ở 4°C trong đĩa 96 giếng MaxiSorp (Nunc, Wiesbaden, Germany). Phong bế các giếng này bằng dung dịch cazein (1%). Sau khi bổ sung dung dịch huyết thanh vào, phát hiện tổng IgG được gắn kết bằng cách sử dụng globulin miễn dịch dê kháng lạc đà không bướu được tiếp hợp peroxidaza cây cải ngựa (HRP) (Betyl Laboratories Inc., Montgomery, TX, USA) và phản ứng enzym tiếp theo với sự có mặt của chất nền TMB (3,3',5,5'-tetramentylbenzidin) (Pierce, Rockford, IL, USA). Đối với các lạc đà không bướu 264, 265, 266 và 267, ELISA bổ sung được thực hiện, trong đó các đáp ứng đặc hiệu isotyp đối với VEGF165 và VEGF109 được đánh giá. Các đáp ứng đặc hiệu isotyp được phát hiện bằng cách sử dụng mAb của chuột nhận biết đặc hiệu IgG1 của lạc đà không bướu thông thường và chỉ chuỗi nặng IgG2 và IgG3 của lạc đà không bướu [Daley et al. (2005). Clin. Diagn. Lab. Imm. 12:380-386] tiếp theo bởi tiếp hợp thỏ kháng chuột HRP (DAKO). Các ELISA được phát triển bằng cách sử dụng TMB làm chất nền sinh màu và hệ số hấp thụ được đo ở 450nm. Độ chuẩn huyết thanh đối với mỗi con lạc đà không bướu được mô tả trong Bảng 1.

Bảng 1: Đáp ứng huyết thanh đặc hiệu qua trung gian kháng thể đối với VEGF165 và VEGF109 ELISA (pha rắn protein tái tổ hợp được bao ngoài)

		EGF165 tái tổ hợp của người				VEGF 109 tái tổ hợp của người			
Lạc đà không bướu	Chất kháng nguyên	Tổng số IgG	IgG1	IgG2	IgG3	Tổng số IgG	IgG1	IgG2	IgG3
234	VEGF165-KLH + VEGF109	++	n/d	n/d	n/d	++	n/d	n/d	n/d
235	VEGF165-KLH + VEGF109	++	n/d	n/d	n/d	++	n/d	n/d	n/d
280	VEGF165-KLH + VEGF109	+	n/d	n/d	n/d	+	n/d	n/d	n/d

		EGF165 tái tổ hợp của người				VEGF 109 tái tổ hợp của người			
281	VEGF165-KLH + VEGF109	+	n/d	n/d	n/d	+	n/d	n/d	n/d
264	VEGF109	n/d	++	+	+	++	++	+	+
265	VEGF109	n/d	++	+	+	+	++	+	+
266	VEGF109	n/d	++	+	+/-	++	++	+	+/-
267	VEGF109	n/d	+/-	-	-	+/-	+/-	-	-

n/d, không xác định

Ví dụ 2. Tạo dòng vô tính chỉ các kho mảnh kháng thể chuỗi nặng và tạo ra thể thực khuẩn

Sau lần tiêm kháng nguyên cuối, gom các mô miễn dịch là nguồn tế bào B mà tạo ra các kháng thể chuỗi nặng từ các con lạc đà không bướu được gây miễn dịch. Thông thường, hai mẫu máu 150-ml, được gom 4 và 8 ngày sau lần tiêm kháng nguyên cuối cùng và một sinh thiết hạch bạch huyết, được gom 4 ngày sau lần tiêm kháng nguyên cuối cùng, được gom đối với động vật. Dựa trên các mẫu máu này, tế bào đơn nhân của máu ngoại vi (PBMC) được tạo ra bằng cách sử dụng Ficoll-Hypaque theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA). Dựa trên PBMC và sinh thiết hạch bạch huyết, tổng số ARN được chiết xuất, mà được sử dụng làm nguyên liệu khởi đầu đối với RT-PCR để khuếch đại VHH mã hóa các đoạn ADN, như được mô tả trong WO2005/044858. Đối với mỗi con lạc đà không bướu được gây miễn dịch, thư viện được tạo cấu trúc bằng cách góp tổng số ARN được phân lập từ tất cả các mô miễn dịch được gom của động vật đó. Nói tóm lại, kho VHH được khuếch đại PCR được tạo dòng vô tính qua các vị trí giới hạn đặc hiệu vào vectơ được thiết kế để tạo thuận lợi cho thể hiện thể thực khuẩn của thư viện VHH. Vectơ này có nguồn gốc từ pUC119 và chứa đoạn khởi đầu LacZ, trình tự mã hóa protein M13 thể thực khuẩn gIII, gen kháng đối với ampixilin hoặc carbenixilin, trình tự dẫn đầu nhiều vị trí tạo dòng vô tính và gIII-pelB lai (pAX050). Trong khung với trình tự mã hóa VHH, vectơ mã hóa c-myc tag và His6 tag đầu C. Thể thực khuẩn được tạo ra theo các phương pháp tiêu chuẩn và được lưu trữ sau khi lọc tiệt trùng ở 4°C để sử dụng tiếp.

Ví dụ 3. Chọn lọc VHH đặc hiệu VEGF qua thể hiện thể thực khuẩn

Các thư viện thể hiện thể thực khuẩn VHH được sử dụng cho các chiến lược chọn lọc khác nhau áp dụng nhiều điều kiện chọn lọc. Các thay đổi bao gồm i) dạng VEGF protein (rhVEGF165, rhVEGF109 hoặc rmVEGF164), ii) phương pháp thể

hiện kháng nguyên (pha rắn: được phủ trực tiếp hoặc qua biotin-tag trên các đĩa được phủ Neutravidin; pha dung dịch: ủ trong dung dịch tiếp theo bằng cách bắt trên các đĩa được bao ngàoi Neutravidin), iii) nồng độ kháng nguyên và iv) phương pháp tách rửa (tách rửa trypsin hoặc tách rửa cạnh tranh bằng cách sử dụng VEGFR2). Tất cả việc chọn lọc được thực hiện trong đĩa 96 giếng Maxisorp (Nunc, Wiesbaden, Germany).

Việc chọn lọc được thực hiện như sau: Ủ các thư viện thể thực khuẩn ở nhiệt độ trong phòng với các nồng độ khác nhau của kháng nguyên VEGF, trong dung dịch hoặc được giữ cố định trên chất mang rắn. Sau 2 giờ ủ và rửa rộng rãi, tách rửa thể thực khuẩn được gắn kết. Trong trường trypsin được sử dụng để tách rửa thể thực khuẩn, hoạt tính proteaza được làm trung hòa tức thời bằng cách bổ sung 0,8mM chất ức chế proteaza AEBSF. Lượng thể thực khuẩn thể hiện sự làm giàu so với tổng thể được sử dụng để gây nhiễm *E. coli*. Các tế bào E. *coli* được gây nhiễm được sử dụng để tạo ra thể thực khuẩn cho vòng chọn lọc tiếp theo (giải thoát thể thực khuẩn) hoặc được bọc trên các đĩa thạch (LB+amp+glucoza$^{2\%}$) để phân tích các dòng vô tính VHH riêng rẽ. Để sàng lọc lượng chọn lọc đối với các chấtt gắn kết đặc hiệu, các khuẩn lạc đơn lẻ được chọn từ các đĩa thạch và được phát triển trong đĩa 96 giếng sâu 1mL. Sự biểu hiện VH được kiểm soát lacZ được cảm biến bằng cách bổ sung IPTG (từ 0,1 đến 1mM cuối cùng) vào. Các phần chiết tế bào chất (với thể tích khoảng 80µL) được tạo ra theo các phương pháp tiêu chuẩn.

Ví dụ 4. Nhận biết VHH gắn kết VEGF và phong bế thụ thể VEGF

Các phần chiết tế bào chất được thử nghiệm để gắn kết với VEGF165 của người bởi ELISA. Tóm lại, 2µg/mL VEGF 165 tái tổ hợp của người được giữ cố định qua đêm ở 4°C trong đĩa 96 giếng MaxiSorp (Nunc, Wiesbaden, Germany). Phong bế các giếng này bằng dung dịch cazein (1%). Thông thường, sau khi bổ sung pha loãng gấp 10 lần phần chiết tế bào chất, phát hiện sự gắn kết của VHH bằng cách sử dụng tiếp hợp chuột kháng myc (Roche) và kháng HRP của chuột (DAKO). Các dòng vô tính thể hiện các tín hiệu ELISA lớn hơn gấp 3 lần so với tổng thể được xem là VHH gắn kết VEGF.

Ngoài ra, các phần chiết tế bào chất được sàng lọc trong thử nghiệm VEGF165 của người/VEGFR2 AlphaScreen của người (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay) để đánh giá khả năng phong bế của VHH. VEGF165 của người

được biotinyl hóa bằng cách sử dụng Sulfo-NHS-LC-Biotin (Pierce, Rockford, IL, USA). VEGFR2 của người/thể khảm Fc (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) được bắt bằng cách sử dụng VHH kháng Fc của người mà được kết hợp với hạt thụ thể theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Perkin Elmer, Waltham, MA, US). Để đánh giá khả năng làm trung hòa của VHH, các phần chiết tế bào chất được pha loãng 1/25 trong chất đệm PBS chứa Tween 20 0,03% (Sigma-Aldrich) và được ủ trước với 0,4nM VEGF165 của người được biotinyl hóa trong 15 phút ở nhiệt độ trong phòng (RT). Thêm hạt thụ thể (10µg/ml) và 0,4nM VEGFR2-huFc vào hỗn hợp này và được ủ tiếp trong 1 giờ ở RT trong bóng tối. Sau đó, thêm hạt cho (10µg/ml) vào tiếp theo ủ 1 giờ ở RT trong bóng tối. Đo huỳnh quang bằng cách đọc các đĩa trên trên thiết bị đọc Envision Multi label Plate (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) bằng cách sử dụng bước sóng kích thích 680nm và bước sóng phát ra nằm trong khoảng từ 520nm đến 620nm. Phần chiết tế bào chất chứa VHH không liên quan được sử dụng làm đối chứng âm tính. Phần chiết tế bào chất chứa VHH kháng VEGF165 mà có khả năng làm giảm tín hiệu huỳnh quang với nhiều hơn 60% so với tín hiệu của đối chứng âm tính được nhận diện là thành công. Tất cả các thành công được nhận diện trong AlphaScreen được xác nhận trong ELISA cạnh tranh. Để kết thúc, 1µg/mL thể khảm VEGFR2 của người (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) được phủ vào đĩa 96 giếng MaxiSorp (Nunc, Wiesbaden, Germany). Các pha loãng gấp năm lần của phần chiết tế bào chất được ủ với sự có mặt của nồng độ cố định (4nM) VEGF165 của người được biotinyl trong chất đệm PBS chứa cazein 0,1% và Tween 20 0,05% (Sigma-Aldrich). Sự gắn kết của các phức hợp VHH/bio-VEGF165 này với đĩa được phủ thể khảm VEGFR2 của người được phát hiện bằng cách sử dụng peroxidaza cây cải ngựa (HRP) được tiếp hợp extravidin (Sigma, St Louis, MO, USA). Các trình tự ID của VHH và trình tự AA tương ứng của VHH gắn kết VEGF (không phong bế thụ thể) và VHH ức chế (phong bế thụ thể) lần lượt được liệt kê trong Bảng 2 và Bảng 3.

Bảng 2: Các trình tự ID và các trình AA của VHH kháng VEGF "không phong bế thụ thể" hóa trị một (FR, khung; CDR, vùng quyết định phần bổ trợ)

VHH ID/ SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 01C02/**58**	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCTASGGSFS	SYGMG	WFRQSPG KEREFVS	AISEYSNTYCS DSVRG	RFTISRDNTKNTVYLQM NSLTPDDTAIYYCAA	SPTILLTTEQW YKY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 01E07/**59**	EVQLVESGGGLVQAG DSLRLSCVATGRTFR	ASDMG	WFRQAPG KEREFVA	AINWSGLSTF YTDSVKG	RFTISRDNDNGALYLQM NTLKPEDTAVYSCAA	GRIPSSSRFSSP AAYAS	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 03D12/**60**	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCTASTSIYT	ITVMA	WFRQAPG KEREFVA	AITWSAPTTY YADSVKG	RFTISRDNAKNTVYLRM NSLKPEDSAIYYCAA	DRFKGRSIVTP SDYRY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 04B08/**61**	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGSAVG	DITVA	WYRQAPG IQRQLVA	TITPSGYTYY WDFVKG	RFTISRDNSKNIVYLQM NSLKPEDTAAYYCNT	QFY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 05B02/**62**	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGRTFS	TDDVG	WFRQAPG KEREFVA	VIRWSTGGTY TSDSVKG	RFTLSRDNAKNTMYLQ MNSLKPEDTAVYYCAA	RSRPLGAGAW YSGEKHYNY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 05B03/**63**	EVQLVESGGGLAQAG DSLRLSCAASGRSFS	HYNMG	WFRQAPG KEREFVA	SIRGGGGSTTY ANSVKD	RFTISRENAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYYCAA	TAFYRGPYDY DY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 05B05/**64**	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCVASGIRFM	SMA	WYRQAPG KHRELVA	RISSGGTTAYV DSVKG	RFTISRDNSKNTVYLQM NSLKAEDTAVYYCNT	FSSRPNP	WGAGT QVTVSS
VEGFBII 06G02/**65**	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGNIFS	NNAMA	WYRQAPG KQRELVA	RISSGGGFTYY LDSVKG	RFTVSRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCNA	AYRTYNY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 07A03/**66**	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASTSIYS	ITVMA	WFRQAPG KESEFVA	AITWSAPSSY YADSVKG	RFTISRDNAKNTVYLQM NSLKPEDSAIYYCAA	DRFKGRSIVTR SDYKY	WGQGT QVTVSS

VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	ISVMA	WFRQAPG	AITWSAPTTY	RFTISRDNAKNTVYLQT	DRFKGRSIVTR	WGQGT
07A06/67	GSLRLSCAVSTSIYS		KERAFVA	YADSVKG	NSLKPEDSAIYYCAA	SDYRY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQTG	NYAMA	WFRQAPG	AINQRGSNTN	RFTISRDSAKNSVFLQM	STWYGYSTYA	WGQGT
07D08/68	GSLRLSCAASGRTFS		KEREFVS	YADSVKG	NSLKPEDTAVYYCAA	RREEYRY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	DNVMG	WFRQAAG	HISRGGSRTEY	RFTISRDNTKKTMYLQM	SRSVALATARP	WGQGT
08D09/69	GSLRLSCAASGRSFS		KEREFVA	AESVKG	NSLKPEDTAVYYCAA	YDY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLAQAG	SYYMG	WFRQAPG	TISWNKISTIY	RFTVSRDNNKNTVYLQ	DASRPTLRIPQ	WGQGT
08E07/70	GSLRLSCTTSGLTFS		KEREFVA	TDSVKG	MNSLKPEDTAVYYCAA	Y	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQPG	SDVMG	WYRQAPG	FIRSLGSTYYA	RFTISRDDAANTVYLQM	RFSGESY	WGQGT
08F06/71	GSLRLSCAASGSIVR		KQRELVA	GSVKG	NNLKPEDTAVYYCNA		PVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	LYAMG	WFRQAPG	AITWSAGDTQ	RFTISRDNARNTVNLQM	RQWGGTYYY	WGQGT
08F07/72	GSLRLSCAVSGSTFG		REREFLS	YADSVKG	NGLKPEDTAVYYCAG	HGSYAY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQPG	SMA	WYRQAPG	RISSEGTTAYV	RFTISRDNSKNTVYLQM	FSSRPNP	WGAGT
09A09/73	GSLRLSCVASGIRFM		KHRELVA	DSVKG	NSLKAEDTAVYYCNT		TVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	TDDVG	WFRQAPG	VIRWSTGGTY	RFTLSRDNAKNTMYLQ	RSRPLGAGAW	WGQGT
09A12/74	GSLRLSCAASGRTFS		KEREFVA	TSDSVAG	MNSLKPEDTAVYYCAA	YTGETRYDS	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQPG	RYGMG	WFRQAPG	AISEYDNVYT	RFTISRDNSKSTVYLQM	SPTILLSTDEW	WGRGT
09D05/75	DSLRLSCAASGLSFS		KEREFVI	ADSVRG	NSLKSEDTAVYYCAA	YKY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	TDDVG	WFRQAPG	VIRWSTGGTY	RFTLSRDNAKNTMYLQ	RSRPLGAGAW	WGQGT
09F05/76	GSLRLSCAASGRTFS		KEREFVA	TSDSVKG	MNSLKPEDTAVYYCAA	YTGETRYNY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	NYAMG	WFRQVPG	VITRSPSNTYY	RFTISRDNAKNIVYLQM	HYWNSDSYTY	WGQGT
10C07/77	GSLSLSCAASARAFS		RREREFVA	TDSVKG	NSLKPEDTAVYYCAA	TDSRWYNY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	NYAMG	WFRQAPG	DISSSGINTYV	RFTISRDNAKNTVYLQM	SAWWYSQMA	WGQGT
10E07/78	GSLRLSCAASGRTFS		KERVLVA	ADAVKG	NSLKPEDTAVYYCAA	RDNYRY	QVTVSS

VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	RYAMG	WFRQAPG	SINTSGKRTSY	RFAVSRDNAKNTGYLQ	DRFFGSDSNEP	WGQGT
10G04/79	GSLRLSCAASGDTLS		KEREFVA	ADSMKG	MNSLKLEDTATYYCAA	RAYRY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	NYNMG	WFRQAPG	TIRHHGYDTY	RFTISRDNAKNTVYLQM	KLFWDMDPKT	WGQGT
10G05/80	ESLRLSCVASGITFS		KEREFVA	YAESVKG	NSLKPEDTALYSCAK	GFSS	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	SYGLG	WFRQAPG	AIGWSGSSTY	RFTVSVDNAKNTVYLK	KVRNFNSDWD	WGQGT
11C08/81	GSLRLSCAASGRTLS		KEREFVA	YADSVKG	MNSLEPEDTAVYYCAA	LLTSYNY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	SYAIG	WFRQAPG	RISWSGANTY	RFTISRGNAKNTVYLQM	QTTSKYDNYD	WGQGT
11C11/82	GSLMLSCAASGRALS		REREFVA	YADSVKG	NSLKPEDTAAYYCAA	ARAYGY	QVTVSS
VEGFBII	EEQLVESGGGLVQAG	SYAIG	WFRQAPG	RISWSGANTY	RFTISRGNAKNTVYLQM	QTTSKYDNYD	WGQGT
11D09/83	GSLMLSCAASGRALS		REREFVA	YADSVKG	NSLKPEDTAAYYCAA	ARAYGY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	SYAMG	WFRQAPG	TISQSGYSTYY	RFTISRDNAKNTVNLQM	DPFYSYGSPSP	WGQGT
11E04/84	GSLRLSCAASGRTFS		KEREFVA	ADSVKG	NSLKPEDTAVYYCAA	YRY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQPG	FSAMG	WFRQAPG	AFKWSGSTTY	RFTISTDNAKNILFLQMN	DRFYTGRYYSS	WGQGT
11E05/85	GSLRLSCASSGRLFS		KEREFVA	YADYVKG	SLKPEDTAIYYCAV	DEYDY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	ITVMA	WFRQAPG	AITWSAPSSY	RFTISRDNAKNTVYLQV	DRFKGRSIVTR	WGQGT
11F10/86	GSLRLSCAASTSIYS		KEREFVA	YADSVKG	NSLKPEDSAIYYCAA	SDYRY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQSG	SLAMG	WFRQVPG	SISQSGITTSY	RFTISRDSAKNTVYLQM	SVFYSTALTRP	WGQGT
11F12/87	GSLRLSCAASGRSFS		KDREFVA	ADSVKS	NLLKPEDTAVYYCAT	VDYRY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	ITVMA	WFRQAPG	AITWSAPTTYS	RFTISRDNAKNTVYLQM	DRFKGRSIVTR	WGQGT
11G09/88	GSLRLSCAASTSIYS		KEREFVA	ADSVKG	NSLKPEDSAIYYCAA	SDYRY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQAG	KYVMG	WFRQAPG	AITSRDGPTYY	RFTISGDNTKNKIFLQMN	DEDLYHYSSY	WGQGT
12A07/89	GSLRLSCSVTGRTFN		NDREFVA	ADSVKG	SLMPEDTAVYYCAI	HFTRVDLYHY	QVTVSS
VEGFBII	EVQLVESGGGLVQPG	SSWMY	WVRQAPG	RISPGGLFTYY	RFSVSTDNANNTLYLQM	GGAPNYTP	RGRGT
12B01/90	GSLRLACAASGFTLS		KGLEWVS	VDSVKG	NSLKPEDTALYSCAK		QVTVSS

VEGFBII 12C04/91	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGSIVR	SDVMG	WYRQAPG KQRELVA	FIRSLGSTYYA GSVKG	RFTISRDNAANTVYLQM NNLKPEDTAVYYCNA	RFSGESY	WGQGT PVTVSS
VEGFBII 12E10/92	EVQLVESGGGLAQAG GSLRLSCTASGRTFN	NYVMG	WFRQAPG NEREFVA	AITSTNGPTYY ADSVKG	RFTISGDNTKNKVFLQM DSLRPEDTAVYYCAI	DEDLYHYSSY HYTRVALYHY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 12G04/93	EVQLVESGGGLVQSG DSLRLSCAVSGNTFG	LYAMG	WFRQAPG RREFVS	AITWSAGDTQ YADSVKG	RFTISRDNARNTVNLQM NGLKPEDTAVYYCAG	RQWGGTYYY HGSYAW	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 16C03/94	EVQLVESEGGLVQAG GSLRLSCAASGRTFS	TDDVG	WFRQAPG KEREFVA	VIRWSTGGTY TSDSVKG	RFTLSRDNAKNTMYLQ MNSLKPEDTAVYYCAA	RSRPLGAGAW YTGENYYNY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 16F11/95	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGRTSS	GYDMG	WFRQAPG KEREFVT	AITWSGGSTY SPDSVKG	RFTISRDNAKNTVYLQM NNLTPEDTAVYYCAS	GRIWRSRDYD SEKYYDI	WGHGT QVTVSS
VEGFBII 36C08/96	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWTNSMTY YADSVKG	RFTISRDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYYCAV	DRRRTYSRWR FYTGVNDYDY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 37F09/97	EVQLVESGGGLVQTG GSLRLSCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWSGGMTY YADSVQG	RFTISRDNAKSTVYLQM NSPKPEDTAVYYCAV	DRRRAYSRWR YYTGVNDYEF	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 38A06/98	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWSGGMTY YADSVKG	RFTISRDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYYCAV	DRRRLYSRWR YYTGVNDYDY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 39H11/99	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWTGGMTY YADSVKG	RFTISRDKAKNTVSLQM NSLKPEDTAVYYCAV	DRRRTYSRWR YYTGVNEYEY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 41B06/ 100	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWTGDMTY YADSVKG	RFTISRDKAKNTVSLQM NSLKPEDTAVYYCAA	DRRRTYSRWR YYTGVNEYEY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 41C05/ 101	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGRTFS	VYTMG	WFRQAPG KEREFVA	TISRTGDRTSY ANSVKG	RFTISRENAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYSCAA	GPIAPSPRPREY YY	WGQGT QVTVSS

VEGFBII 41D11/ 102	EVQLMESGGGLVQA GGSLRLSCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWTGGMTY YADSVKG	RFTISRDKAKNTVSLQM NSLKPEDTAVYYCAV	DRRRTYSRWR YYTGVNEYEY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 42F10/ 103	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWSGGMTD YADSVKG	RFTISRENAKNTQFLQM NSLKPEDTAVYYCAV	GRRRAYSRWR YYTGVNEYDY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 86C11/ 104	EVQLVESGGGLVQAG DSLRLSCTASGRTFN	SYAMG	WFRQAPG KERESVA	HINRSGSSTYY ADSVKG	RFTISRDNAKNTVYLQL NSLKPEDTAVYYCAA	GRYYSSDGVPS ASFNY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 86F11/ 105	EVQLVESGGGLVQAG DSLRLSCFTSARTFD	TWAM A	WFRQAPG KEREFIS	AISWSGSMTY YTDSVKG	RFIISRDNAQNTLFLQMN NTAPEDTAVYYCAA	KTVDYCSAYE CYARLEYDY	WGRGA QVTVSS
VEGFBII 86G08/ 106	EVQLVESGGGLMQT GDSLRLSCAASGLRF T	STNMG	WFRQGPG KEREFVA	AITLSGTTYYA EAVKG	RFTISRDNDKNTVALQM NSLKPEDTAVYYCGA	DPSYYSTSRYT KATEYDY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 86G10/ 107	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGRTFN	TYTMG	WFRQTPG TEREFVA	AIRWTVNITY YADSVKG	RFTISRDIVKNTVYLQM NSLKPEDTAVYYCAA	QTSAPRSLIRM SNEYPY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 86G11/ 108	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGLTFS	LYTVG	WFRQAPG KEREFVA	YISRSGSNRYY VDSVKG	RFTLSRDNAKNTVDLQ MNSLKTEDTAVYYCAA	TSRGLSSLAGE YNY	WGRGT QVTVSS

VEGFBII 86H09/ 109	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCTASGSAFK	SYRMG	WFRRTPG KEDEFVA	SISWTYGSTFY ADSVKG	RFTMSRDKAKNAGYLQ MNSLKPEDTALYYCAA	GAQSDRYNIRS YDY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 87B07/ 110	EVQLVESGGGLVQPG GSLKLSCTASGFTFS	TSWMH	WVRQAPG KGLEWVS	SIPPVGHFANY APSVKG	RFTISRDNAKNTLFLQM NSLKSEDTAVYYCAK	DSAGRT	KGQGT QVTVSS
VEGFBII 88A01/ 111	KVQLVESGGGLVQA GGSLRLSCAASERTFS	NYAMD	WFRQAPG KEREFVA	AITRSGGGTY YADSVKG	RFTISRDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYYCAA	TRSSTIVVGVG GMEY	WGKGT LVTVSS
VEGFBII 88A02/ 112	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGFTFG	DYDIG	WFRQAPG NEREGVS	CITTDVGTTY YADSVKG	RFTISSDNAKNTVYLQIN DLKPEDTAIYYCAV	DTQDLGLDIFC RGNGPFDG	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 88B02/ 113	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCTASGLNLD	DYAIG	WFRQAPG KEREGVS	CISSYDSVTYY ADHVKG	RFTISRDSAKNTLYLQM NSLSIEDTGVYYCAA	EREQLRRRESP HDELLRLCFYG MRY	SGKGTL VTVSS
VEGFBII 88E02/ 114	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCVASGFRLD	DYAIG	WFRQAPG KEREAVS	CISSSDTSIDYT NSVKG	RFTFSRDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYYCAA	AFRCSGYELRG FPT	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 88G03/ 115	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGGTFS	SLAVG	WFRQAPG KEREFVA	RITWSGATTY YADAVKD	RFTISRDNAKNTMYLQM NSLKPEDTAVYYCAA	DRSPNIINVVT AYEYDY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 88G05/ 116	EVQLVESGGGLVQPG ASLRLSCAASGDGFT	LYNMG	WFRQAPG KEREFVA	AITSSPMSTYY ADSVKG	RFSISINNDKTTGFLQMN VLKPEDTGVYFCAA	PEGSFRRQYAD RAMYDY	WGQGT QVTVSS

VEGFBII 88G11/ 117	EVQLVESGGGLAQAG GSLRLSCAASGRTFS	GSDMG	WFRQSPG KEREIVA	AIRLSGSITYY PDSVKG	RFTISRDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYYCAA	RSTYSYYLALA DRGGYDY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 88H01/ 118	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCVASGFTLG	TYAIG	WFRQAPG KEREAVS	CMSAGDSIPW YTASVKG	RFTTSTDNARNTVYLQM NSLKPEDTAHYYCAA	ARYHGDYCYY EGYYPF	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 89B04/ 119	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASTSISS	TNFMG	WYRQAPG KQRELVA	TITSSSITNYV DSVKG	RFTISRDNAKNTVYLQM TSLKPEDTAVYYCHA	RWRWSDVEY	WGKGT LVTVSS
VEGFBII 89B08/ 120	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGTTSS	IFAMR	WYRQAPG KQRELVA	SITRSSITTYA DSVKG	RFTPSRDNAKNTVSLQM NSLKPEDTAVYYCNA	AIRPELYSVVN DY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 89D04/ 121	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCATSGLTFS	DYNLG	WFRQAPG KERQFVA	VISWRDSFAY YAEPVKG	RFTISRDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYYCAA	DRVSSRLVLPN TSPDFGS	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 89F09/ 122	EVQLVESGGGLVQAG DSLRLSCAASGRTFN	NAIMG	WFRQAPG QEREFVA	AMNWRGGPT YYADSVKG	RFTISGDNTKNTVFLQM NFLKPEDTAVYYCAA	DEDLYHYSSY HYSRVDLYHY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 89G09/ 123	EVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGTTSS	IFAMR	WYRQAPG KQRELVA	SITRSSITTYA DSVKG	RFTLSRDNAKNTVSLQM NSLKPEDTAVYYCNA	AIRPELYSVVN DY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 89H08/ 124	EVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGGSFS	SYAPG	WFRQAPG KEREFVA	AFTRSSNIPYY KDSVKG	RFTISRDNAHTVYLQMN SLKPEDTAIYYCAV	NLGSTWSRDQ RTYDY	WGQGT QVTVSS

Bảng 3: Các trình tự ID và các trình tự AA của VHH kháng VEGF phong bế thụ thể hóa trị một (FR, khung; CDR, vùng quyết định tính bổ trợ) SEQ ID NO: từ 9 đến 46

VHH ID/ SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 22A10/9	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TADYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 22A11/10	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMA	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGFIYD AVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 22B06/11	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AASGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 22B07/12	EVQLVESGGGL VQAGDSLRLSC AASGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGNYK YDSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQINSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL GDTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 22E04/13	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC VASGRTSS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGSIYD SVSLQG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYASSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 23A03/14	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC VASGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGYIY DSVSLQG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS

VEGFBII 23A06/15	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGFIYD AVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 23A08/16	EVQLVESGGGL VQTGDSLRLSC VASGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISNGGYKY DSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQINSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 23A09/17	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFG	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNSKNTV YLQTPSLKPEDT AVYYCAA	SRAYGSSRLRL PDTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 23B04/18	EVQLVESGGGL VQTGDSLRLSC EVSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISKGGYKY DSVSLEG	RFTISKDNAKNT VYLQINSLKPED TAVYYCAS	SRAYGSSRLRL ADTYEY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 23D11/19	EVQLVESGGGL VQPGDSLRLSC AFSGRTFS	SYSMA	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGFIYD AVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 23E05/20	EVQLVESEGGL VQPGDSLKLSC VASGRTSS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGYIY DSVSLQG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 23F02/21	EMQLVESGGG LVQPGDSLKLS CAFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TADYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 23F05/22	EVQLVESGGGL VQAGDSLRLSC AASGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGNYK YDSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQINSLKPKD TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL GDTYDY	WGQGTQ VTVSS

VEGFBII 23F11/23	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGGYI YDSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TADYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 23G03/24	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFG	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNSKNTV YLQTPSLKPEDT AVYYCAA	SRAYGSSRLRL PGTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 24C04/25	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC VASGRTSS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGYIY DSVSLQG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 27D08/26	EVQLVESGGGL VQTGDSLRLSC AASGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGYKY DSVSLEG	RFTISRDNTQNT VYLQINSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSGRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 27G07/27	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC VASGRTSS	SYSMG	WFRQAQGQ EREFVV	AISSGGYIY DSVSLQG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 30C09/28	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC IASGRTSS	SYSMG	WFRQAQGQ EREFVV	AISSGGYIY DSVSLQG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 30E07/29	EVQLVESGGGL VQAGDSLRLSC AASGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGNYK YDSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQINSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL GDTYDY	WGQGTR VTVSS
VEGFBII 31C07/30	EVQLVESGGGL VQTGDSLRLSC AASGGTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TADYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS

VEGFBII 39E02/31	EVQLVESGGGL VQPGDPLKLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TADYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 39G04/32	EVPLVESGGGL VQAGDSLRLSC AASGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGNYK YDSASLEG	RFTISRDNTKNT VYLQINSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL GDTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 40F02/33	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMA	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGFIYD AVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPEG TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 40G07/34	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTKNA VYLQTPSLKPED TADYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 40H10/35	EVQLMESGGG LVQPGDSLKLS CAFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TADYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 41B05/36	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGFIYD AVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 41G03/37	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMA	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGFIYD AVSLEG	RFTISRENTKNTV YLQTPSLKPEDT AVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 42A05/38	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQMPSLKPED TADYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS

VEGFBII 42D05/39	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 42F11/40	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC VASGRTSS	SYSVG	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGYIY DSVSLQG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 56E11/41	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED AADYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 60A09/42	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTRNTV YLQTPSLKPEDT ADYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 61A01/43	EVQLVESGGGL VQAGGSLRLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSGGYKY DAVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYASSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 62A09/44	EVQLVESGGDL VQPGDSLKLSC AASGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGGYIY DSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 62D10/45	EVQLVESEGGL VQAGDSLRLSC AASGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AISSSGNYK YDSVSLEG	RFTISRDNTKNT VYLQINSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL GDTYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 62F02/46	EVQLVESGGGL VQPGDSLKLSC AFSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGK EREFVV	AIASGGYIY DAVSLEG	RFTISRDNTKDT VYLQTPSLKPED TAVYYCAA	SRAYGSSRLRL ADTYDY	WGQGTQ VTVSS

Phân tích tốc độ phân ly của các VHH ức chế trên Biacore (Biacore T100 instrument, GE Healthcare). Chất đệm HBS-EP+ được sử dụng làm chất đệm chạy và các thử nghiệm được thực hiện ở 25°C. VEGF 165 tái tổ hợp của người được bắt không thuận nghịch trên chip cảm biến CM5 qua cặp đôi amin (bằng cách sử dụng EDC và NHS) đến mức đích +/-1500RU. Sau khi giữ cố định, các bề mặt được khử hoạt tính bằng cách tiêm 10 phút bằng 1M etanolamin, độ pH = 8,5. Bề mặt tham chiếu được tạo hoạt tính và được khử hoạt tính lần lượt bằng EDC/NHS và etanolamin. Phần chiết tế bào chất chứa VHH được tiêm ở với nồng độ pha loãng gấp 10 lần trong chất đệm chạy trong 2 phút ở 45µl/phút và cho phép phân ly trong 10 hoặc 15 phút. Trong số các mẫu khác nhau, các bề mặt được phục hồi bằng chất đệm phục hồi. Các dữ liệu được tham chiếu kép bằng cách trừ các đường cong trên kênh tham chiếu và tiêm chất đệm chạy để trống. Đánh giá các đường cong được xử lý bằng cách khớp mô hình phân rã hai pha trong phần mềm Đánh giá Biacore T100 v2.0.1. Các giá trị đối với k_d-nhanh, k_d-chậm và % nhanh được liệt kê trong Bảng 4.

Bảng 4: Xác định tốc độ dừng phản ứng của VHH phong bế thụ thể kháng VEGF bằng Biacore

Dòng tế bào B	Thay đổi trình tự đơn nhất	VHH ID đại diện	k_d(nhanh)	k_d(chậm)	% nhanh	Mức gắn kết (RU)
1	1	VEGFBII22B07	1,50E-02	7,80E-05	31	328
1	2	VEGFBII23A08	1,30E-02	5,00E-05	19	502
1	3	VEGFBII23B04	8,80E-03	4,00E-05	12	768
1	4	VEGFBII27D08	2,40E-02	8,10E-05	13	225
1	5	VEGFBII24C04	1,30E-02	3,40E-05	17	456
1	6	VEGFBII27G07	1,30E-02	3,80E-05	18	471
1	7	VEGFBII22E04	1,80E-02	1,10E-04	14	520
1	8	VEGFBII23A03	1,50E-02	3,20E-05	15	487
1	9	VEGFBII22B06	3,80E-02	9,00E-05	23	168
1	10	VEGFBII23A09	2,70E-02	4,60E-05	20	247
1	11	VEGFBII23G03	2,80E-02	8,60E-05	28	141
1	12	VEGFBII22A11	2,20E-02	4,70E-05	12	461
1	13	VEGFBII23A06	1,70E-02	3,70E-05	13	547
1	14	VEGFBII23F11	2,70E-02	1,30E-04	22	134
1	15	VEGFBII22A10	3,70E-02	4,00E-05	19	229
1	16	VEGFBII23F05	1,60E-02	1,30E-04	29	198

1	17	VEGFBII23D11	1,90E-02	5,80E-05	13	510
1	18	VEGFBII23F02	n/d	n/d	n/d	n/d
1	19	VEGFBII23E05	1,50E-02	6,90E-05	18	275
1	20	VEGFBII31C07	3,70E-02	1,50E-04	25	77
1	21	VEGFBII30C09	1,50E-02	7,60E-05	19	264
1	22	VEGFBII30E07	1,70E-02	1,30E-04	29	226
1	23	VEGFBII39G04	1,40E-02	7,40E-04	40	210
1	24	VEGFBII41G03	1,20E-02	2,70E-04	20	332
1	25	VEGFBII41B05	1,90E-02	1,20E-04	16	324
1	26	VEGFBII40F02	1,20E-02	9,80E-05	20	258
1	27	VEGFBII39E02	1,90E-02	2,40E-04	13	181
1	28	VEGFBII42D05	3,30E-02	1,50E-04	26	77
1	29	VEGFBII40G07	1,80E-02	3,20E-04	19	139
1	30	VEGFBII42A05	1,60E-02	3,40E-04	25	118
1	31	VEGFBII42F11	9,10E-03	5,00E-04	46	100
1	32	VEGFBII40H10	1,40E-02	2,90E-04	17	200
1	33	VEGFBII62A09	4,10E-02	1,10E-04	23	84
1	34	VEGFBII60A09	3,70E-02	9,30E-05	20	106
1	35	VEGFBII62F02	1,40E-02	8,50E-05	21	205
1	36	VEGFBII62D10	1,90E-02	1,60E-04	40	94
1	37	VEGFBII61A01	7,40E-03	1,70E-04	21	275
1	38	VEGFBII56E11	3,30E-02	1,40E-04	24	76

n/d, không xác định

Ví dụ 5. Mô tả đặc điểm của các VHH kháng VEGF được tinh chế

Ba VHH kháng VEGF ức chế được chọn để xác định đặc điểm tiếp đối với protein được tinh chế: VEGFBII23B04, VEGFBII24C4 và VEGFBII23A6. Các VHH này được biểu hiện ở E. *coli* TG1 như c-myc, protein His6-tag. Sự biểu hiện được cảm biến bằng cách bổ sung 1mM IPTG và cho phép tiếp tục trong 4 giờ ở 37°C. Sau khi quay tròn môi trường nuôi cấy tế bào, phần chiết tế bào chất được tạo ra bằng cách làm tan băng các hạt. Các phần chiết này được sử dụng làm nguyên liệu khởi đầu để tinh chế VHH qua IMAC và sắc ký rây phân tử (SEC). Chế phẩm VHH cuối cùng thể hiện độ tinh khiết 95% như được đánh giá qua SDS-PAGE.

5.1 Đánh giá VHH phong bế VEGF165/VEGFR2 của người trong ELISA phong bế VEGF165 của người/VEGFR2-Fc của người

Khả năng phong bế của VHH được đánh giá trong ELISA phong bế VEGF165 của người/VEGFR2-Fc của người. Tóm lại, 1µg/mL thể khảm VEGFR2-Fc (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) được phủ vào đĩa 96 giếng MaxiSorp (Nunc, Wiesbaden, Germany). Các dãy pha loãng (nồng độ nằm trong khoảng từ 1mM đến 64pM) của VHH được tinh chế trong chất đệm PBS chứa cazein 0,1% và Tween 20 0,05% (Sigma) được ủ với sự có mặt của 4nM VEGF165 được biotinyl hóa. Sự gắn kết dư của bio-VEGF165 với VEGFR2 được phát hiện bằng cách sử dụng peroxidaza cây cải ngựa (HRP) tiếp hợp extravidin (Sigma, St Louis, MO, USA) và TMB làm chất nền. Đối với các đối chứng, Bevacizumab (Avastin®) và Ranibizumab (Lucentis®) được thực hiện cùng nhau. Các đường cong ức chế liều được thể hiện trên Fig.1; các giá trị IC_{50} tương ứng và % ức chế được tổng kết trong Bảng 5.

Bảng 5: Các giá trị IC_{50} (nM) và % ức chế đối với VHH hóa trị một trong ELISA cạnh tranh hVEGF165/hVEGFR2-Fc

VHH ID	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII23B04	2,1	100
VEGFBII23A06	3,0	100
VEGFBII24C04	2,5	100
Ranibizumab	1,6	100
Bevacizumab	1,7	100

5.2 Đánh giá VHH phong bế VEGF165/VEGFR2 của người trong ELISA phong bế VEGF165 của người/VEGFR1-Fc của người

VHH cũng được đánh giá trong ELISA phong bế VEGF165 của người/VEGFR1-Fc của người. Tóm lại, 2µg/mL thể khảm VEGFR1-Fc (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) được phủ vào đĩa 96 giếng MaxiSorp (Nunc, Wiesbaden, Germany). Các dãy pha loãng (nồng độ nằm trong khoảng từ 1mM đến 64pM) của VHH được tinh chế trong chất đệm PBS chứa cazein 0,1% và Tween 20 0,05% (Sigma) được ủ với sự có mặt của 0,5nM VEGF165 được biotinyl hóa. Gắn kết dư của bio-VEGF165 với VEGFR1 được phát hiện bằng cách sử dụng peroxidaza cây cải ngựa (HRP) tiếp hợp extravidin (Sigma, St Louis, MO, USA) và TMB làm chất nền. Đối với các đối chứng, Bevacizumab, Ranibizumab và VHH (2E6) không liên quan được thực hiện cùng nhau. Các đường cong ức chế liều được thể hiện trên Fig.2; các giá trị IC_{50} tương ứng và % ức chế được tổng kết trong Bảng 6.

Bảng 6: Các giá trị IC_{50} (nM) và % ức chế của VHH hóa trị một trong ELISA cạnh tranh hVEGF165/hVEGFR1-Fc

VHH ID	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII23B04	0,5	64
VEGFBII23A06	0,9	55
VEGFBII24C04	0,8	71
Ranibizumab	1,2	91
Bevacizumab	1,5	96

5.3 Đánh giá VHH kháng VEGF165 trong AlphaScreen phong bế VEGF165 của người/VEGFR2-Fc của người

Khả năng phong bế của VHH cũng được đánh giá trong AlphaScreen phong bế VEGF165 của người/VEGFR2-Fc của người. Tóm lại, các pha loãng theo dãy của các VHH được tinh chế (nồng độ nằm trong khoảng từ 200nM đến 0,7pM) trong chất đệm PBS chứa Tween 20 0,03% (Sigma) được bổ sung vào 4pM bio-VEGF165 và được ủ trong 15 phút. Sau đó, bổ sung VEGFR2-Fc (0,4nM) và hạt thụ thể được phủ VHH kháng Fc (20µg/ml) vào và ủ hỗn hợp này trong 1 giờ trong bóng tối. Cuối cùng, bổ sung hạt cho streptavidin (20µg/ml) vào và sau 1 giờ ủ trong bóng tối, đo huỳnh quang trên thiết bị đọc vi đĩa Envision. Các đường cong đáp ứng liều được thể hiện trên Fig.3. Các giá trị IC_{50} đối với VHH phong bế sự tương tác VEGF165 của người - VEGFR2-Fc của người được tổng kết trong Bảng 7.

Bảng 7: Giá trị IC_{50} (pM) và % ức chế đối với VHH trong AlphaScreen cạnh tranh hVEGF165/hVEGFR2-Fc

VHH ID	IC_{50} (pM)	% ức chế
VEGFBII23B04	160	100
VEGFBII23A06	250	100
VEGFBII24C04	250	100
Ranibizumab	860	100

5.4 Đánh giá VHH kháng VEGF165 trong AlphaScreen phong bế VEGF165 của người/VEGFR1-Fc của người

Khả năng phong bế của VHH cũng được đánh giá trong AlphaScreen phong bế VEGF165 của người/VEGFR1-Fc của người. Tóm lại, các pha loãng theo dãy của VHH được tinh chế (nồng độ nằm trong khoảng từ 500nM đến 1,8pM) trong chất đệm PBS chứa Tween 20 0,03% (Sigma) được bổ sung vào 0,4nM bio-VEGF165 và ủ

trong 15 phút. Sau đó, bổ sung VEGFR1-Fc (1nM) và hạt thụ thể được phủ VHH kháng Fc (20µg/ml) và ủ hỗn hợp này trong 1 giờ trong bóng tối. Cuối cùng, bổ sung hạt cho streptavidin (20µg/ml) vào và sau 1 giờ ủ trong bóng tối, đo huỳnh quang trên thiết bị đọc vi đĩa Envision. Các đường cong đáp ứng liều được thể hiện trên Fig.4. Các giá trị IC_{50} và % ức chế đối với VHH phong bế sự tương tác VEGF165 của người - VEGFR1-Fc của người được tổng kết trong Bảng 8.

Bảng 8: Các giá trị IC_{50} (nM) đối với VHH trong AlphaScreen cạnh tranh hVEGF165/hVEGFR1-Fc

VHH ID	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII23B04	0,9	41
VEGFBII23A06	0,4	46
VEGFBII24C04	0,2	53
Ranibizumab	3,3	79

5.5 Xác định ái lực của tương tác VEGF165 của người - VHH

Phân tích động học gắn kết của VHH VEGFBII23B04 với hVEGF165 bằng SPR trên dụng cụ Biacore T100. VEGF 165 tái tổ hợp của người được gắn cố định trực tiếp trên chip CM5 qua cặp đôi amin (bằng cách sử dụng EDC và NHS). VHH được phân tích ở các nồng độ khác nhau nằm trong khoảng từ 10 đến 360nM. Các mẫu được tiêm trong 2 phút và cho phép phân ly đến tối đa 20 phút ở tốc độ dòng 45µl/phút. Trong giữa các lần tiêm mẫu, bề mặt chip được phục hồi bằng 100mM HCl. HBS-EP+ (chất đệm Hepes có độ pH=7,4 + EDTA) được sử dụng làm chất đệm chạy. Các đường cong gắn kết được làm thích hợp bằng cách sử dụng mô hình Phản ứng hai trạng thái bởi phần mềm Đánh giá Biacore T100 v2.0.1. Các ái lực được tính toán của VHH kháng VEGF được liệt kê trong Bảng 9.

Bảng 9: Ái lực K_D (nM) của VHH được tinh chế đối với VEGF 165 tái tổ hợp của người

	VEGF165						
VHH ID	k_a ($M^{-1}.s^{-1}$)	k_{a1} ($M^{-1}.s^{-1}$)	k_{a2} ($M^{-1}.s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	k_{d1} (s^{-1})	k_{d2} (s^{-1})	K_D (nM)
VEGFBII23B04[(a)]	-	2,1E+05	1,4E-02	-	8,6E-03	2,4E-04	0,7
VEGFBII23A06[(a)]	-	4,2E+05	2,0E-02	-	5,7E-02	1,0E-04	0,7
VEGFBII24C04[(a)]	-	3,2E+05	1,8E-02	-	2,6E-02	9,6E-05	0,4

[(a)] Đường cong gắn kết không đồng nhất dẫn đến không thích hợp 1:1, các đường cong được hiệu chỉnh theo mô hình Phản ứng hai trạng thái bởi phần mềm đánh giá Biacore T100 v2.0.1

5.6 Gắn kết với VEGF164 của chuột

Khả năng phản ứng tương đương với VEGF164 của chuột được xác định bằng cách sử dụng ELISA gắn kết. Tóm lại, VEGF164 tái tổ hợp của chuột (R&D Systems, Minneapolis, MS, USA) được phủ qua đêm ở 4°C ở 1µg/mL vào đĩa 96 giếng MaxiSorp (Nunc, Wiesbaden, Germany). Phong bế các giếng này bằng dung dịch cazein (1% trong PBS). VHH được áp dụng như dãy pha loãng (nồng độ nằm trong khoảng từ 500nM đến 32pM) trong chất đệm PBS chứa cazein 0,1% và Tween 20 0,05% (Sigma) và phát hiện gắn kết bằng cách sử dụng tiếp hợp kháng myc (Roche) của chuột và kháng HRP của chuột (DAKO) và phản ứng enzym tiếp theo với sự có mặt của chất nền TMB (3,3',5,5'-tetramentylbenzidin) (Pierce, Rockford, IL, USA) (Fig.5). mAb phản ứng với VEGF164 của chuột được bao gồm là đối chứng dương tính. Để tham chiếu, sự gắn kết với VEGF165 của người cũng được đo. Các giá trị EC_{50} được tổng kết trong Bảng 10.

Bảng 10: Các giá trị EC_{50} (pM) đối với VHH trong VEGF 165 tái tổ hợp của người và ELISA gắn kết VEGF164 của chuột

	rhVEGF165	rmVEGF164
VHH ID	EC_{50} (pM)	EC_{50} (pM)
VEGFBII23B04	297	NB
VEGFBII24C04	453	NB
VEGFBII23A06	531	NB

NB, không gắn kết

5.7 Gắn kết với VEGF121

Sự gắn kết với VEGF 121 tái tổ hợp của người được đánh giá qua ELISA gắn kết pha rắn. Tóm lại, VEGF 121 tái tổ hợp của người (R&D Systems, Minneapolis, MS, USA) được phủ qua đêm ở 4°C ở 1µg/mL vào đĩa 96 giếng MaxiSorp (Nunc, Wiesbaden, Germany). Phong bế các giếng này bằng dung dịch cazein (1% trong PBS). VHH được áp dụng như dãy pha loãng (nồng độ nằm trong khoảng từ 500nM đến 32pM) trong chất đệm PBS chứa cazein 0,1% và Tween 20 0,05% (Sigma) và phát hiện gắn kết bằng cách sử dụng tiếp hợp kháng myc (Roche) của chuột và kháng HRP của chuột (DAKO) và phản ứng enzym tiếp theo với sự có mặt của chất nền TMB (3,3',5,5'-tetramentylbenzidin) (Pierce, Rockford, IL, USA) (Fig.6). Đối với đối

chứng dương tính, các pha loãng theo dãy của VEGFR2 được thực hiện cùng nhau. Các giá trị EC_{50} được tổng kết trong Bảng 11.

Bảng 11: Các giá trị EC_{50} (pM) đối với VHH hóa trị một trong ELISA gắn kết VEGF 121 tái tổ hợp của người

VHH ID	EC_{50} (pM)
VEGFBII23B04	510
VEGFBII24C04	792
VEGFBII23A06	928

5.8 Gắn kết với các thành viên VEGFB, VEGFC, VEGFD và PlGF của họ VEGF

Sự gắn kết với VEGFB, VEGFC, VEGFD và PlGF được đánh giá qua ELISA gắn kết pha rắn. Tóm lại, VEGFB, VEGFC, VEGFD và PlGF (R&D Systems, Minneapolis, MS, USA) được phủ qua đêm ở 4°C ở 1µg/mL vào đĩa 96 giếng MaxiSorp (Nunc, Wiesbaden, Germany). Phong bế các giếng này bằng dung dịch cazein (1% trong PBS). VHH được áp dụng như dãy pha loãng (nồng độ nằm trong khoảng từ 500nM đến 32pM) và phát hiện gắn kết bằng cách sử dụng tiếp hợp kháng myc (Roche) của chuột và kháng AP của chuột (Sigma, St Louis, MO, USA). Đối với các đối chứng dương tính, các pha loãng theo dãy của các thụ thể thích hợp được thực hiện cùng nhau và được phát hiện bằng peroxidaza cây cải ngựa (HRP) tiếp hợp IgG của dê kháng người, kháng thể đặc hiệu Fc (Jackson Immuno Research Laboratories Inc., West Grove, PA, USA) và phản ứng enzym tiếp theo với sự có mặt của chất nền TMB (3,3',5,5'-tetramentylbenzidin) (Pierce, Rockford, IL, USA). Các đường cong đáp ứng liều của VHH và đối chứng được thể hiện trên Fig.7. Các kết quả thể hiện rằng không có gắn kết nào có thể phát hiện của VHH được chọn với VEGFB, VEGFC, VEGFD hoặc PlGF.

5.9 Gắn kết epitop

Các thử nghiệm gắn kết epitop dựa trên Biacore được thực hiện để điều tra các chất gắn kết VEGF gắn kết với epitop tương tự hoặc trùng nhau như VEGFBII23B04. Để kết thúc, VEGFBII23B04 được gắn cố định trên chip cảm biến CM5. Đối với mỗi mẫu, VEGF165 của người được chuyển qua bề mặt chip và được bắt không thuận nghịc bởi VEGFBII23B4. Sau đó, VHH được tinh chế (100nM) hoặc phần chiết tế bào chất (được pha loãng 1/10) được tiêm với thời gian tiếp xúc bề mặt 240 giây và tốc độ

dòng 10uL/phút. Trong số các mẫu khác nhau, bề mặt được phục hồi bằng chất đệm phục hồi (100mM HCl). Các đường cong xử lý được đánh giá bằng phần mềm đánh giá Biacore T100. VHH có thể được chia thành hai nhóm: nhóm một mà tạo ra gắn kết bổ sung với VEGFBII23B04 bắt VEGF165 và nhóm thứ hai không có khả năng gắn kết đồng thời với VEGFBII23B04 bắt VEGF165. Bảng 12-A tổng kết các epitop gắn kết của VHH được thử nghiệm.

Thử nghiệm tương tự được thiết lập bằng cách sử dụng để đánh giá nếu VEGFR1, VEGFR2, Ranibizumab và Bevacizumab có khả năng gắn kết với VEGF-165 của người đồng thời với VEGFBII23B04. Bảng 12-B thể hiện các đáp ứng gắn kết bổ sung với VEGFBII23B04 bắt VEGF165. Chỉ VEGFR2 không có khả năng gắn kết với VEGFBII23B04 bắt VEGF165, nhấn mạnh khả năng phong bế của VEGFBII23B04 đối với sự tương tác VEGF-VEGFR2. Ngoài ra, các dữ liệu này thể hiện rằng epitop VEGFBII23B04 khác với epitop Bevacizumab và Ranibizumab.

Bảng 12-A: Gắn kết epitop của VHH kháng VEGF - gắn kết đồng thời với VEGFBII23B04

Không hoặc gắn kết bổ sung thấp với VEGF165* bắt 23B04	1C02	1E07	4B08	8E07	8F07	12A07	12B01	86C11	86F11	86G08
	86G10	86G11	87B07	88A01	88A02	88B02	88E02	88G03	88G05	88G11
	88H01	89B04	89D04	89F09	89G09	89H08	24C04	23A6	27G07	23B04
Gắn kết bổ sung với VEGF165 bắt 23B04	3D12	5B02	5B03	5B05	6G02	7D08	8D09	8F06	10C07	10E07
	10G04	10G05	11C08	11D09	11E04	11E05	11F12	86H09	41C05	

* cho biết các epitop đồng nhất hoặc trùng nhau

Bảng 12-B: Gắn kết epitop của VEGFBII23B04 - gắn kết của chất ức chế điểm chuẩn hoặc các thụ thể cùng nguồn gốc đối với VEGFBII23B04 bắt VEGF165

Bước tiêm	Gắn kết	[mẫu]	Mức gắn kết (RU)
1	VEGF165	100 nM	1727
2	VEGFBII23B04	100 nM	-
3	Ranibizumab	100 nM	763
4	Bevacizumab	100 nM	1349
5	VEGFR1	100 nM	1011
6	VEGFR2	100 nM	-

5.10 Mô tả đặc điểm của VHH kháng VEGF trong thử nghiệm tăng sinh tế bào HUVEC

Hiệu lực của VHH được chọn được đánh giá trong thử nghiệm tăng sinh tế bào. Tóm lại, các tế bào HUVEC nguyên thủy (Technoclone) được bỏ đói bổ sung qua đêm và sau đó tạo hạt 4000 tế bào/giếng thành bốn bản trong đĩa nuôi cấy mô 96 giếng. Tế bào được kích thích với sự không có mặt hoặc có mặt của VHH bằng 33ng/mL VEGF. Tốc độ tăng sinh tế bào được đo bằng sự kết hợp [^{3}H] Thymidin vào ngày 4. Các kết quả của thử nghiệm tăng sinh tế bào HUVEC được thể hiện trong Bảng.

Bảng 13: Các giá trị IC_{50} (nM) và % ức chế của VEGFBII23B04, VEGFBII23A06 và VEGFBII24C04 hóa trị một trong thử nghiệm tăng sinh tế bào VEGF HUVEC

VHH ID	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII23B04	0,36	91
Bevacizumab	0,21	92

VHH ID	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII23A06	4,29	73
VEGFBII24C04	3,8	79
Bevacizumab	0,78	78

5.11 Mô tả đặc điểm của VHH kháng VEGF trong thử nghiệm phosphoryl hóa HUVEC Erk

Hiệu lực của VHH được chọn được đánh giá trong thử nghiệm phosphoryl hóa HUVEC Erk. Tóm lại, các tế bào HUVE nguyên thủy được bỏ đói huyết thanh qua đêm và sau đó được kích thích với sự không có mặt hoặc có mặt của VHH bằng 10ng/mL VEGF trong 5 phút. Cố định tế bào bằng Formaldehyt 4% trong PBS và các mức phosphoryl hóa ERK được đo bởi ELISA bằng cách sử dụng các kháng thể đặc hiệu phosphoERK (pERK1&2 kháng phosphoMAP Kinaza, M8159, Sigma) và tiếp hợp globulin miễn dịch-HRP thỏ kháng chuột (PO161, Dako). Như được thể hiện trong Bảng 14, VEGFBII23B04 và Bevacizumab ức chế VEGF gây phoshoryl hóa Erk ít nhất 90%, với IC_{50} <1nM.

Bảng 14: Các giá trị IC_{50} (nM) và % ức chế VEGFBII23B04 hóa trị một trong thử nghiệm phosphoryl hóa VEGF HUVEC Erk

VHH ID	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII23B04	0,37	90
Bevacizumab	0,63	98

Ví dụ 6. Tạo ra VHH phong bế kháng VEGF hóa trị một

VHH VEGFBII23B04 được dung hợp về mặt di truyền với VEGFBII23B04 dẫn đến VHH dime đồng thể (trình tự AA xem Bảng 15) hoặc các VHH gắn kết VEGF khác nhau dẫn đến VHH dime dị thể. Để tạo ra VHH dime dị thể, panen của 10 VHH gắn kết VEGF đơn nhất được liên kết qua 9 hoặc 40 cầu liên kết linh hoạt Gly-Ser theo hai hướng khác nhau với VEGFBII23B04 (các trình tự AA xem Bảng 15). VEGFBII23B04 dime đồng thể (VEGFBII010) và 40 VHH hóa trị hai dime dị thể được biểu hiện ở E. *coli* TG1 như c-myc, protein His6-tag. Sự biểu hiện được cảm biến bằng cách bổ sung 1mM IPTG và cho phép tiếp tục trong 4 giờ ở 37°C. Sau khi quay tròn môi trường nuôi cấy tế bào, phần chiết tế bào chất được tọa ra bằng cách làm tan băng các hạt. Các phần chiết này được sử dụng làm nguyên liệu khởi đầu và VHH được tinh chế qua IMAC và khử muối thu được độ tinh khiết 90% như được đánh giá qua SDS-PAGE.

Bảng 15: Trình tự ID, VHH ID và trình tự AA của VHH kháng VEGF hóa trị hai (mỗi trình tự của cầu liên kết hữu ích được làm nổi bật trong một trình tự có liên quan)

Trình tự ID/ SEQ ID NO:	VHH ID	Trình tự AA
VEGFBII23B04-35GS-23B04/**128**	VEGFBII010	EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSM GWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSR AYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII23B04-9GS-4B08/**129**		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSAVGDITVAWYRQAPGIQRQLVATITPSGYTYYWD FVKGRFTISRDNSKNIVYLQMNSLKPEDTAAYYCNTQFYWGQGTQVTVSS
VEGFBII23B04-9GS-5B03/**130**		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGSEVQLVESGGGLAQAGDSLRLSCAASGRSFSHYNMGWFRQAPGKEREFVASIRGGGGSTTY ANSVKDRFTISRENAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATAFYRGPYDYDYWGQGTQVTVSS
VEGFBII23B04-9GS-5B05/**131**	VEGFBII022	EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGIRFMSMAWYRQAPGKHRELVARISSGGTTAYVDS VKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLKAEDTAVYYCNTFSSRPNPWGAGTQVTVSS
VEGFBII23B04-9GS-6G02/**132**		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGNIFSNNAMAWYRQAPGKQRELVARISSGGGFTYYL DSVKGRFTVSRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNAAYRTYNYWGQGTQVTVSS

Trình tự ID/ SEQ ID NO:	VHH ID	Trình tự AA
VEGFBII23B04-9GS-10E07/133		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSNYAMGWFRQAPGKERVLVADISSSGINTYVA DAVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASAWWYSQMARDNYRYWGQGTQVTVS S
VEGFBII23B04-9GS-12B01/134		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLACAASGFTLSSSWMYWVRQAPGKGLEWVSRISPGGLFTYY VDSVKGRFSVSTDNANNTLYLQMNSLKPEDTALYSCAKGGAPNYYTPRGRGTQVTVSS
VEGFBII23B04-9GS-86C11/135		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCTASGRTFNSYAMGWFRQAPGKERESVAHINRSGSSTYY ADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQLNSLKPEDTAVYYCAAGRYYSSDGVPSASFNYWGQGTQVTVS S
VEGFBII23B04-9GS-86H09/136		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCTASGSAFKSYRMGWFRRTPGKEDEFVASISWTYGSTFYA DSVKGRFTMSRDKAKNAGYLQMNSLKPEDTALYYCAAGAQSDRYNIRSYDYWGQGTQVTVSS
VEGFBII23B04-9GS-87B07/137		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCTASGFTFSTSWMHWVRQAPGKGLEWVSSIPPVGHFANY APSVKGRFTISRDNAKNTLFLQMNSLKSEDTAVYYCAKDSAGRTKGQGTQVTVSS
VEGFBII23B04-9GS-88A01/138		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASERTFSNYAMDWFRQAPGKEREFVAAITRSGGGTYY ADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATRSSTIVVGVGGMEYWGKGTQVTVSS

Trình tự ID/ SEQ ID NO:	VHH ID	Trình tự AA
VEGFBII23B04-40GS-4B08/**139**		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSA VGDITVAWYRQAPGIQRQLVATITPSGYTYYWDFVKGRFTISRDNSKNIVYLQMNSLKPEDTAAY YCNTQFYWGQGTQVTVSS
VEGFBII23B04-40GS-5B03/**140**		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLAQAGDSLRLSCAASGRS FSHYNMGWFRQAPGKEREFVASIRGGGGSTTYANSVKDRFTISRENAKNTVYLQMNSLKPEDTA VYYCAATAFYRGPYDYDYWGQGTQVTVSS
VEGFBII23B04-40GS-5B05/**141**	VEGFBII021	EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGIRF MSMAWYRQAPGKHRELVARISSGGTTAYVDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLKAEDTAVYY CNTFSSRPNPWGAGTQVTVSS
VEGFBII23B04-40GS-6G02/**142**		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGNIF SNNAMAWYRQAPGKQRELVARISSGGGFTYYLDSVKGRFTVSRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTA VYYCNAAYRTYNYWGQGTQVTVSS
VEGFBII23B04-40GS-10E07/**143**	VEGFBII023	EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRT FSNYAMGWFRQAPGKERVLVADISSSGINTYVADAVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTA VYYCAASAWWYSQMARDNYRYWGQGTQVTVSS

Trình tự ID/ SEQ ID NO:	VHH ID	Trình tự AA
VEGFBII23B04-40GS-12B01/144		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLACAASGFT LSSSWMYWVRQAPGKGLEWVSRISPGGLFTYYVDSVKGRFSVSTDNANNTLYLQMNSLKPEDTA LYSCAKGGAPNYTPRGRGTQVTVSS
VEGFBII23B04-40GS-86C11/145		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCTASGRTF NSYAMGWFRQAPGKERESVAHINRSGSSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQLNSLKPEDTAVY YCAAGRYYSSDGVPSASFNYWGQGTQVTVSS
VEGFBII23B04-40GS-86H09/146	VEGFBII024	EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCTASGSAF KSYRMGWFRRTPGKEDEFVASISWTYGSTFYADSVKGRFTMSRDKAKNAGYLQMNSLKPEDTAL YYCAAGAQSDRYNIRSYDYWGQGTQVTVSS
VEGFBII23B04-40GS-87B07/147		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCTASGFTF STSWMHWVRQAPGKGLEWVSSIPPVGHFANYAPSVKGRFTISRDNAKNTLFLQMNSLKSEDTAV YYCAKDSAGRTKGQGTQVTVSS
VEGFBII23B04-40GS-88A01/148		EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEG RFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASERTF SNYAMDWFRQAPGKEREFVAAITRSGGGTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCAATRSSTIVVGVGGMEYWGKGTQVTVSS

Trình tự ID/ SEQ ID NO:	VHH ID	Trình tự AA
VEGFBII4B08-9GS-23B04/149		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSAVGDITVAWYRQAPGIQRQLVATITPSGYTYYWDFVKGRFTISRDNSKNIVYLQMNSLKPEDTAAYYCNTQFYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII5B03-9GS-23B04/150		EVQLVESGGGLAQAGDSLRLSCAASGRSFSHYNMGWFRQAPGKEREFVASIRGGGGSTTYANSVKDRFTISRENAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATAFYRGPYDYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII5B05-9GS-23B04/151		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGIRFMSMAWYRQAPGKHRELVARISSGGTTAYVDSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLKAEDTAVYYCNTFSSRPNPWGAGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII6G02-9GS-23B04/152		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGNIFSNNAMAWYRQAPGKQRELVARISSGGGFTYYLDSVKGRFTVSRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNAAYRTYNYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII10E07-9GS-23B04/153		EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSNYAMGWFRQAPGKERVLVADISSSGINTYVADAVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASAWWYSQMARDNYRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII12B01-9GS-23B04/154		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLACAASGFTLSSSWMYWVRQAPGKGLEWVSRISPGGLFTYYVDSVKGRFSVSTDNANNTLYLQMNSLKPEDTALYSCAKGGAPNYTPRGRGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS

Trình tự ID/ SEQ ID NO:	VHH ID	Trình tự AA
VEGFBII86C11-9GS-23B04/**155**		EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCTASGRTFNSYAMGWFRQAPGKERESVAHINRSGSSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQLNSLKPEDTAVYYCAAGRYYSSDGVPSASFNYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII86H09-9GS-23B04/**156**		EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCTASGSAFKSYRMGWFRRTPGKEDEFVASISWTYGSTFYADSVKGRFTMSRDKAKNAGYLQMNSLKPEDTALYYCAAGAQSDRYNIRSYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII87B07-9GS-23B04/**157**		EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCTASGFTFSTSWMHWVRQAPGKGLEWVSSIPPVGHFANYAPSVKGRFTISRDNAKNTLFLQMNSLKSEDTAVYYCAKDSAGRTKGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII88A01-9GS-23B04/**158**		EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASERTFSNYAMDWFRQAPGKEREFVAAITRSGGGTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATRSSTIVVGVGGMEYWGKGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII4B08-40GS-23B04/**159**		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSAVGDITVAWYRQAPGIQRQLVATITPSGYTYYWDFVKGRFTISRDNSKNIVYLQMNSLKPEDTAAYYCNTQFYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS

Trình tự ID/ SEQ ID NO:	VHH ID	Trình tự AA
VEGFBII5B03-40GS-23B04/160		EVQLVESGGGLAQAGDSLRLSCAASGRSFSHYNMGWFRQAPGKEREFVASIRGGGGSTTYANSV KDRFTISRENAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATAFYRGPYDYDYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFS SYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYC ASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII5B05-40GS-23B04/161		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGIRFMSMAWYRQAPGKHRELVARISSGGTTAYVDSVKGR FTISRDNSKNTVYLQMNSLKAEDTAVYYCNTFSSRPNPWGAGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQ AQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSR LRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII6G02-40GS-23B04/162		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGNIFSNNAMAWYRQAPGKQRELVARISSGGGFTYYLDSVK GRFTVSRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNAAYRTYNYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMG WFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRA YGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII10E07-40GS-23B04/163	VEGFBII025	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSNYAMGWFRQAPGKERVLVADISSSGINTYVADAV KGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASAWWYSQMARDNYRYWGQGTQVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVS GRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDT AVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII12B01-40GS-23B04/164		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLACAASGFTLSSSWMYWVRQAPGKGLEWVSRISPGGLFTYYVDSV KGRFSVSTDNANNTLYLQMNSLKPEDTALYSCAKGGAPNYTPRGRGTQVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMG WFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRA YGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS

Trình tự ID/ SEQ ID NO:	VHH ID	Trình tự AA
VEGFBII86C11-40GS-23B04/165		EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCTASGRTFNSYAMGWFRQAPGKERESVAHINRSGSSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQLNSLKPEDTAVYYCAAGRYYSSDGVPSASFNYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII86H09-40GS-23B04/166		EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCTASGSAFKSYRMGWFRRTPGKEDEFVASISWTYGSTFYADSVKGRFTMSRDKAKNAGYLQMNSLKPEDTALYYCAAGAQSDRYNIRSYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII87B07-40GS-23B04/167		EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCTASGFTFSTSWMHWVRQAPGKGLEWVSSIPPVGHFANYAPSVKGRFTISRDNAKNTLFLQMNSLKSEDTAVYYCAKDSAGRTKGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS
VEGFBII88A01-40GS-23B04/168		EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASERTFSNYAMDWFRQAPGKEREFVAAITRSGGGTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATRSSTIVVGVGGMEYWGKGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGKEREFVVAISKGGYKYDSVSLEGRFTISKDNAKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSS

Panen gồm 40 VHH hóa trị hai được thử nghiệm trong thử nghiệm AlphaScreen phong bế VEGFR2 và VEGFR1, lần lượt như được mô tả trong Ví dụ 5.3 và 5.4. Dựa trên hiệu lực và mức ức chế tối đa, 5 VHH hóa trị hai tốt nhất (VEGFBII021, VEGFBII022, VEGFBI023, VEGFBI024 và VEGFBII025) được chọn để mô tả đặc điểm tiếp. Toàn bộ kết quả sàng lọc đối với 5 VHH hóa trị hai được chọn trong thử nghiệm cạnh tranh AlphaScreen VEGFR2 và VEGFR1 được thể hiện trong Bảng 16.

Bảng 16: Hiệu lực và hiệu quả của 5 VHH hóa trị hai tốt nhất trong thử nghiệm AlphaScreen cạnh tranh VEGF/VEGFR1 và VEGF/VEGFR2

VHH ID	VEGFR2	VEGFR1	
	IC_{50} (pM)	IC_{50} (pM)	% ức chế
VEGFBII021	9	16	100
VEGFBII022	7	8	100
VEGFBII023	38	44	91
VEGFBII024	12	46	100
VEGFBII025	51	39	82

Ví dụ 7. Xác định đặc điểm của VHH kháng VEGF được định dạng

Các VHH VEGFBII010, VEGFBII021, VEGFBII022, VEGFBII023, VEGFBII024 và VEGFBII025 được so sánh cạnh nhau trong ELISA phong bế VEGFR2 và VEGFR1 (lần lượt là Fig.8 và 9, Bảng 17 và Bảng 18) và thử nghiệm AlphaScreen (Fig.10 và 11, Bảng 19 và 20) lần lượt như được mô tả trong các Ví dụ 5.1, 5.2, 5.3 và 5.4.

Bảng 17: Các giá trị IC_{50} (pM) và % ức chế đối với VHH được định dạng trong ELISA cạnh tranh hVEGF165/hVEGFR2-Fc

VHH ID	IC_{50} (pM)	% ức chế
VEGFBII010	49	100
VEGFBII021	204	100
VEGFBII022	164	100
VEGFBII023	213	100
VEGFBII024	292	100
VEGFBII025	577	100
Bevacizumab	315	100
Ranibizumab	349	100

Bảng 18: Các giá trị IC_{50} (pM) và % ức chế của VHH được định dạng trong ELISA cạnh tranh VEGF165/hVEGFR1-Fc

VHH ID	IC_{50} (pM)	% ức chế
VEGFBII010	73,5	67
VEGFBII021	254	97
VEGFBII022	225	89
VEGFBII023	279	91
VEGFBII024	326	92
VEGFBII025	735	91
Bevacizumab	484	91
Ranibizumab	594	96

Bảng 19: Các giá trị IC_{50} (pM) và % ức chế đối với VHH được định dạng trong AlphaScreen cạnh tranh hVEGF165/hVEGFR2-Fc

VHH ID	IC_{50} (pM)	% ức chế
VEGFBII010	16	100
VEGFBII021	7	100
VEGFBII022	7	100
VEGFBII023	46	100
VEGFBII024	50	100
VEGFBII025	51	100
Ranibizumab	600	100

Bảng 20: Các giá trị IC_{50} (pM) và % ức chế của VHH được định dạng trong AlphaScreen cạnh tranh VEGF165/hVEGFR1-Fc

VHH ID	IC_{50} (pM)	% ức chế
VEGFBII010	21	70
VEGFBII021	12	100
VEGFBII022	9	98
VEGFBII023	48	87
VEGFBII024	69	98
VEGFBII025	71	82
Ranibizumab	1300	87

Ngoài ra, VHH được định dạng cũng được thử nghiệm đối với khả năng phong bế sự tương tác mVEGF164/mVEGFR2-huFc. Tóm lại, các pha loãng theo dãy của VHH được tinh chế (nồng độ nằm trong khoảng từ 4μM đến 14,5pM) trong chất đệm PBS chứa Tween 20 0,03% (Sigma) được bổ sung vào 0,1nM mVEGF164 được biotinyl hóa và ủ trong 15 phút. Sau đó, bổ sung VEGFR2-huFc (0,1nM) của chuột và hạt thụ thể được phủ VHH kháng huFc (20μg/ml) vào và ủ hỗn hợp này trong 1 giờ. Cuối cùng, bổ sung hạt cho streptavidin (20μg/ml) vào và sau 1 giờ ủ, đo huỳnh quang trên thiết bị đọc vi đĩa Envision. Các đường cong đáp ứng liều được thể hiện trên Fig.12. Các giá trị IC_{50} đối với VHH phong bế sự tương tác VEGF164/VEGFR2-hFC được tổng kết trong Bảng 21.

Bảng 21: Các giá trị IC_{50} (pM) và % ức chế đối với VHH được định dạng trong AlphaScreen cạnh tranh mVEGF164/mVEGFR2-hFc

VHH ID	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII022	108	100
VEGFBII024	-	-
mVEGF164	0.05	100
Ranibizumab	-	-

VHH được định dạng cũng được thử nghiệm trong ELISA đối với khả năng gắn kết mVEGF164 và VEGF165 của người (Ví dụ 5.6; Fig.13; Bảng 22); VEGF121 (Ví dụ 5.7; Fig.15; Bảng 23) và các thành viên VEGFB, VEGFC, VEGFD và PlGF của họ VEGF (Ví dụ 5.8; Fig.14). Động học gắn kết đối với VEGF165 của người được phân tích như được mô tả trong Ví dụ 5.5. Các giá trị K_D được liệt kê trong Bảng 24.

Bảng 22: Các giá trị EC_{50} (pM) đối với VHH được định dạng trong VEGF165 tái tổ hợp của người và ELISA gắn kết VEGF164 của chuột

	rhVEGF165	rmVEGF164
VHH ID	EC_{50} (pM)	EC_{50} (pM)
VEGFBII010	428	-
VEGFBII021	334	502
VEGFBII022	224	464
VEGFBII023	221	-
VEGFBII024	320	-
VEGFBII025	668	-

Bảng 23: Các giá trị EC_{50} (pM) đối với VHH được định dạng trong ELISA gắn kết VEGF 121 tái tổ hợp của người

	rhVEGF121
VHH ID	EC_{50} (pM)
VEGFBII010	920
VEGFBII022	540
VEGFBII024	325
VEGFBII025	475

Bảng 24: Ái lực K_D (nM) của VHH được định dạng được tinh chế đối với VEGF165 tái tổ hợp của người

VHH ID	k_{a1} (1/Ms)	k_{d1} (1/s)	k_{a2} (1/s)	k_{d2} (1/s)	K_D (nM)[(a)]
VEGFBII010 [(b)]	4,5E+05	1,7E-02	2,9E-02	1,3E-04	0,16
VEGFBII021[(b)]	1,2E+06	1,1E-02	2,3E-02	1,9E-04	0,07
VEGFBII022[(b)]	1,2E+06	9,1E-03	1,4E-02	2,6E-04	0,14
VEGFBII023[(b)]	3,0E+05	1,8E-02	2,4E-02	2,7E-04	0,69
VEGFBII024[(b)]	3,0E+05	1,3E-02	2,6E-02	2,8E-04	0,47
VEGFBII025[(b)]	3,3E+05	1,7E-02	1,8E-02	3,7E-04	1,1

[(a)] $K_D = k_{d1}/k_{a1} * (k_{d2}/(k_{d2}+k_{a2}))$

[(b)] Các đường cong được làm thích hợp bằng cách sử dụng mô hình Phản ứng hai trạng thái bởi phần mềm đánh giá Biacore T100 v2.0.1

VHH VEGFBII010, VEGFBII022, VEGFBII024 và VEGFBII025 cũng được thử nghiệm trong thử nghiệm tăng sinh tế bào HUVEC và phosphoryl hóa Erk qua trung gian VEGF.

Hiệu lực của VHH được định dạng được chọn được đánh giá trong thử nghiệm tăng sinh tế bào. Tóm lại, các tế bào HUVEC nguyên thủy (Technoclone) được bỏ đói bổ sung qua đêm và sau đó, tạo hạt 4000 tế bào/giếng thành bốn bản trong đĩa nuôi cấy mô 96 giếng. Kích thích tế bào với sự không có mặt hoặc có mặt VHH bằng 33ng/mL VEGF. Tốc độ tăng sinh tế bào được đo bằng sự kết hợp [^{3}H] Thymidin vào ngày 4. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 25 chứng minh rằng VHH được định dạng và

Bevacizumab ức chế VEGF gây tăng sinh tế bào HUVEC lớn hơn 90%, với IC_{50S} <1nM.

Bảng 25: Các giá trị IC_{50} (nM) và % ức chế VHH được định dạng trong thử nghiệm tăng sinh tế bào VEGF HUVEC

VHH ID	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII010	0,22	95
VEGFBII021	0,40	98
VEGFBII022	0,34	100
VEGFBII023	0,52	98
VEGFBII024	0,38	96
VEGFBII025	0,41	104
Bevacizumab	0,21	92

Đánh giá hiệu lực của VHH được định dạng được chọn trong thử nghiệm phosphoryl hóa HUVEC Erk. Tóm lại, các tế bào HUVE nguyên thủy được bỏ đói huyết thanh qua đêm và sau đó được kích thích với sự không có mặt hoặc có mặt của VHH với 10ng/mL VEGF trong 5 phút. Cố định tế bào bằng Formaldehyt 4% trong PBS và các mức phosphoryl hóa ERK được đo bởi ELISA bằng cách sử dụng các kháng thể đặc hiệu phosphoERK (pERK1&2 kháng phosphoMAP Kinaza, M8159, Sigma) và tiếp hợp globulin miễn dịch-HRP thỏ kháng chuột đa dòng (PO161, Dako). Như được thể hiện trong Bảng 26, VHH được định dạng và Bevacizumab ức chế VEGF gây phoshoryl hóa Erk lớn hơn 90%, với IC_{50S} <1nM.

Bảng 26: Các giá trị IC_{50} (nM) và % ức chế VHH được định dạng trong thử nghiệm phosphoryl hóa VEGF HUVEC Erk

VHH ID	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII010	0,19	92
VEGFBII021	0,21	103
VEGFBII022	0,18	94
VEGFBII023	0,25	100
VEGFBII024	0,23	94
VEGFBII025	0,23	99
Bevacizumab	0,63	98

Ví dụ 8. Tối ưu hóa trình tự

8.1 Tối ưu hóa trình tự VEGFBII23B04

Trình tự axit amin của VEGFBII23B04 được sắp hàng với trình tự dòng mầm của người VH3-23/JH5, xem Fig.16 (SEQ ID NO: 179)

Sự sắp xếp này thể hiện rằng VEGFBII23B04 chứa 19 đột biến khung so với trình tự dòng mầm tham chiếu. Các gốc không phải của người ở các vị trí 14, 16, 23, 24, 41, 71, 82, 83 và 108 được chọn để thay thế với với các bản sao dòng mầm của người. Một bộ gồm 8 biến thể VEGFBII23B04 được tạo ra mang các kết hợp khác nhau của các gốc của người ở các vị trí này (các trình tự AA được liệt kê trong Bảng 27). Một biến thể bổ sung được tạo cấu trúc, trong đó vị trí isome hóa tiềm năng ở vị trí D59S60 (vùng CDR2, xem Fig.16, được biểu thị như các gốc in nghiêng nét đậm) được loại bỏ bằng cách đưa đột biến S60A vào.

Bảng 27: Trình tự AA của các biến thể được tối ưu hóa trình tự của VHH VEGFBII23B04 (FR, khung; CDR, vùng quyết định tính bổ trợ)

VHH ID/ SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 111D05/47	EVQLVESGGG LVQTGGSLRL SCEASGRTFS	SYSMG	WFRQAPGKE REFVV	AISKGG YKYDS VSLEG	RFTISRDNAKNT VYLQINSLRPED TAVYYCAS	SRAYGS SRLRLA DTYEY	WGQGTLV TVSS
VEGFBII 111G06/48	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGRTFS	SYSMG	WFRQAPGKE REFVV	AISKGG YKYDS VSLEG	RFTISRDNAKNT VYLQMNSLRPE DTAVYYCAS	SRAYGS SRLRLA DTYEY	WGQGTLV TVSS
VEGFBII 112D11/49	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCEASGRTFS	SYSMG	WFRQAPGKE REFVV	AISKGG YKYDS VSLEG	RFTISRDNAKNT VYLQINSLRPED TAVYYCAS	SRAYGS SRLRLA DTYEY	WGQGTLV TVSS
VEGFBII 113A08/50	EVQLVESGGG LVQTGGSLRL SCEVSGRTFS	SYSMG	WFRQAPGKE REFVV	AISKGG YKYDS VSLEG	RFTISKDNAKN TVYLQINSLRPE DTAVYYCAS	SRAYGS SRLRLA DTYEY	WGQGTLV TVSS
VEGFBII 113E03/51	EVQLVESGGG LVQTGDSLRL SCEVSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGKE REFVV	AISKGG YKYDS VSLEG	RFTISKDNAKN TVYLQMNSLRP EDTAVYYCAS	SRAYGS SRLRLA DTYEY	WGQGTLV TVSS
VEGFBII 114C09/52	EVQLVESGGG LVQPGDSLRL SCEVSGRTFS	SYSMG	WFRQAPGKE REFVV	AISKGG YKYDS VSLEG	RFTISKDNAKN TVYLQINSLRPE DTAVYYCAS	SRAYGS SRLRLA DTYEY	WGQGTLV TVSS
VEGFBII 114D02/53	EVQLVESGGG LVQTGGSLRL SCEVSGRTFS	SYSMG	WFRQAPGKE REFVV	AISKGG YKYDS VSLEG	RFTISRDNAKNT VYLQINSLRPED TAVYYCAS	SRAYGS SRLRLA DTYEY	WGQGTLV TVSS
VEGFBII 114D03/54	EVQLVESGGG LVQTGDSLRL SCAVSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGKE REFVV	AISKGG YKYDS VSLEG	RFTISKDNAKN TVYLQINSLRPE DTAVYYCAS	SRAYGS SRLRLA DTYEY	WGQGTLV TVSS
VEGFBII 118E10/55	EVQLVESGGG LVQTGDSLRL SCEVSGRTFS	SYSMG	WFRQAQGKE REFVV	AISKGG YKYDA VSLEG	RFTISKDNAKN TVYLQINSLKPE DTAVYYCAS	SRAYGS SRLRLA DTYEY	WGQGTQV TVSS

Các biến thể này được đặc trưng như protein được tinh chế trong AlphaScreen VEGF165/VEGFR2 (Ví dụ 5.3, Fig.17). Nhiệt độ tan chảy (T_m) của mỗi dòng vô tính được xác định trong thử nghiệm thay đổi nhiệt, mà được dựa trên sự gia tăng tín hiệu huỳnh quang khi kết hợp Sypro Orange (Invitrogen) (Ericsson et al, Anal. Biochem. 357 (2006), pp289-298). Tất cả biến thể này thể hiện IC_{50} có thể so sánh khi được so với VEGFBII23B04 và giá trị T_m mà tương tự hoặc lớn hơn khi được so với VEGFBII23B04 bố mẹ. Bảng 28 tổng kết các giá trị IC_{50} và giá trị T_m ở độ pH = 7 đối với 9 dòng vô tính được thử nghiệm.

Bảng 28: Các giá trị IC_{50} (pM), % ức chế và nhiệt độ tan chảy (@ độ pH = 7) của các biến thể được tối ưu hóa trình tự của VEGFBII23B04

VHH ID	IC_{50} (pM)	% ức chế	T_m @ độ pH = 7 (°C)
VEGFBII23B04 (trọng lượng)	*169*	*100*	*63*
VEGFBII111D05	209	100	68
VEGFBII111G06	366	100	71
VEGFBII112D11	221	100	70
VEGFBII113A08	253	100	69
VEGFBII113E03	290	100	68
VEGFBII114C09	215	100	71
VEGFBII114D02	199	100	74
VEGFBII114D03	227	100	64
VEGFBII118E10	189	100	62

Trong chu trình thứ hai, các đột biến được dung nạp từ nỗ lực được làm tương thích với người (VEGFBII111G06) và đột biến để tránh biến đổi sau dịch mã tiềm năng ở các vị trí được chọn (thay thế D16G, S60A và đột biến E1D) được kết hợp dẫn đến dòng vô tính được tối ưu hóa trình tự có nguồn gốc từ VEGFBII23B04: VEGFBII0037. Một biến thể được tối ưu hóa trình tự thêm (VEGFBII038) được dự đoán mà chứa các thay thế tương tự như VEGFBII0037, với việc ngoại trừ đột biến I82M, do đột biến này có thể có liên quan đến giảm hiệu lực thứ yếu. Các trình tự từ các dòng vô tính được tối ưu hóa trình tự được liệt kê trong Bảng 29. VEGFBII0037 và VEGFBII0038 được đặc trưng trong AlphaScreen phong bế VEGF165/VEGFR2 (Ví dụ 5.3, Fig.18), nhiệt độ tan chảy được xác định trong thử nghiệm thay đổi nhiệt

như được mô tả trên đây và ái lực gắn kết đối với VEGF165 được xác định trong Biacore (Ví dụ 5.5). Toàn bộ đặc điểm của 2 VHH được tối ưu hóa trình tự được thể hiện trong Bảng 30.

Bảng 29: Các trình tự AA của các biến thể được tối ưu hóa trình tự của VHH VEGFBII23B04

VHH ID/ SEQ ID NO:	FR 1	CDR 1	FR2	CDR 2	FR3	CDR 3	FR 4
VEGFBII 037 **56**	DVQLVE SGGGLV QPGGSL RLSCAA SGRTFS	SYSM G	WFRQ APGK EREFV V	AISKGG YKYDA VSLEG	RFTISRDNA KNTVYLQM NSLRPEDTA VYYCAS	SRAYGS SRLRLA DTYEY	WGQ GTLV TVSS
VEGFBII 038 **57**	DVQLVE SGGGLV QPGGSL RLSCAA SGRTFS	SYSM G	WFRQ APGK EREFV V	AISKGG YKYDA VSLEG	RFTISRDNA KNTVYLQIN SLRPEDTAV YYCAS	SRAYGS SRLRLA DTYEY	WGQ GTLV TVSS

Bảng 30: Các giá trị IC_{50} (pM), % ức chế, nhiệt độ tan chảy (@ độ pH = 7) và ái lực (pM) của các dòng vô tính được tối ưu hóa trình tự VEGFBII037 và VEGFBII038

VHH ID	IC_{50} (pM)	% ức chế	T_m (°C) @ độ pH = 7	K_D (pM)
VEGFBII23B04	*152*	*100*	*63*	*560*
VEGFBII037	300	100	72	270
VEGFBII038	143	100	71	360

8.2 Tối ưu hóa trình tự của VEGFBII5B05

Trình tự axit amin của VEGFBII5B05 được sắp hàng với trình tự dòng mầm của người VH3-23/JH5, xem Fig.19 (SEQ ID:NO:179). Sự sắp hàng này thể hiện rằng VEGFBII5B05 chứa 15 đột biến khung so với trình tự dòng mầm tham chiếu. Các gốc không phải của người ở các vị trí 23, 60, 83, 105, 108 được chọn đối với sự thay thế với các bản sao dòng mầm của người của chúng trong khi histidin ở vị trí 44 được chọn đối với sự thay thế bởi glutamin. Một đột biến được làm tương thích với người được tạo cấu trúc mang 6 đột biến được mô tả (trình tự AA được liệt kê trong Bảng 31).

Bảng 31: Trình tự AA của các biến thể được tối ưu hóa trình tự của VHH VEGFBII5B05 (FR, khung; CDR, vùng quyết định tính bổ trợ)

VHH ID/ SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII119G11/ **125**	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIRFM	SMA	WYRQAPGKQRELVA	RISSGGTTAYADSVKG	RFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCNT	FSSRPNP	WGQGTLVTVSS
VEGFBII120E10/ **126**	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGIRFI	SMA	WYRQAPGKHRELVA	RISSGGTTAYVDSVKG	RFTISRDNSKNTVYLQMNSLKAEDTAVYYCNT	FSSRPNP	WGAGTQVTVSS

Một biến thể bổ sung được tạo cấu trúc, trong đó vị trí oxy hóa tiềm năng ở vị trí M30 (vùng CDR1, xem Fig.19 biểu thị như gốc in nghiêng nét đậm) được loại bỏ bằng cách đưa đột biến M30I vào. Các biến thể này được thử nghiệm đối với khả năng gắn kết hVEGF165 bằng cách sử dụng ProteOn. Tóm lại, chip cảm biến GLC ProteOn được phủ với VEGF165 của người. Phần chiết tế bào chất của các biến thể được pha loãng 1/10 và được tiêm ngang qua chip được phủ với VEGF165 của người. Tốc độ dừng phản ứng được tính và so với tốc độ dừng phản ứng của VEGFBII5B05 bố mẹ. Tốc độ dừng phản ứng từ 2 biến thể nằm trong khoảng tương tự như tốc độ dừng phản ứng từ VEGFBII5B05 bố mẹ cho biết rằng tất cả đột biến được dung nạp (Bảng 32).

Bảng 32: Các biến thể được tối ưu hóa trình tự tốc độ dừng phản ứng VEGFBII5B05

VHH ID	Mức gắn kết (RU)	k_d (1/s)
VEGFBII5B05	*242*	*6,15E-02*
VEGFBII119G11	234	7,75E-02
VEGFBII120E10	257	4,68E-02

Trong chu trình thứ hai, các đột biến từ nỗ lực được làm tương thích với người và thay thế M30I được kết hợp dẫn đến dòng vô tính được tối ưu hóa trình tự của VEGFBII5B05, được ký hiệu là VEGFBII032. Trình tự được liệt kê trong Bảng 33. Ái lực của VEGFBII032 được xác định bởi Biacore (xem, Ví dụ 5.5) và nhiệt độ tan chảy được xác định trong thử nghiệm thay đổi nhiệt như được mô tả trên đây. Toàn bộ đặc điểm của VHH VEGFBII032 được tối ưu hóa trình tự được thể hiện trong Bảng 34.

Bảng 33: Trình tự AA của dòng vô tính VEGFBII032 được tối ưu hóa trình tự (FR, khung; CDR, vùng quyết định tính bổ trợ)

VHH ID/ SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII0 32/ 127	EVQLVESG GGLVQPGG SLRLSCAAS GIRFI	SMA	WYRQA PGKQR ELVA	RISSG GTTA YADS VKG	RFTISRDNSK NTVYLQMN SLRAEDTAV YYCNT	FSSRP NP	WGQ GTLV TVSS

Bảng 34: Nhiệt độ tan chảy (@ độ pH = 7) và ái lực (nM) của dòng vô tính được tối ưu hóa trình tự VEGFBII032

VHH ID	T_m (°C) @ độ pH = 7	K_D (nM)
VEGFBII5B05(wt)	*69*	*32*
VEGFBII0032	71	44

Hiệu lực của các dòng vô tính được tối ưu hóa trình tự VEGFBII037 và VEGFBII038 được đánh giá trong thử nghiệm tăng sinh tế bào. Tóm lại, tế bào HUVEC nguyên thủy (Technoclone) được bỏ đói bổ sung qua đêm và sau đó tạo hạt 4000 tế bào/giếng thành bốn bản trong đã nuôi cấy mô 96 giếng. Kích thích tế bào với sự không có mặt hoặc có mặt VHH bằng 33ng/mL VEGF. Tốc độ tăng sinh tế bào được đo bởi kết hợp [^{3}H] Thymidin vào ngày 4. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 35, cho biết rằng hoạt tính (hiệu lực và mức độ ức chế) của VHH VEGFBII23B04 bố mẹ được bảo toàn trong dòng vô tính được tối ưu hóa trình tự VEGFBII038.

Bảng 35: Các giá trị IC_{50} (nM) và % ức chế của các dòng vô tính được tối ưu hóa trình tự VEGFBII037 và VEGFBII038 trong thử nghiệm tăng sinh tế bào VEGF HUVEC

VHH ID	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII23B04	0,68	92
VEGFBII037	1,54	78
VEGFBII038	0,60	92
Bevacizumab	0,29	94

Ví dụ 9. Tạo cấu trúc, sản xuất và mô tả đặc điểm của VHH hóa trị hai tạo đích Ang2

VHH 1D01 (SEQ ID No:214), 11B07, 00908 và 00027 (SEQ ID No:216) lần lượt được dung hợp về mặt di truyền với 1D01 (SEQ ID No: 214), 11B07, 00908 và 00027 (SEQ ID No:216), dẫn đến VHH dime dị thể. VHH hóa trị hai được liên kết qua cầu liên kết linh hoạt 9-GlySer hoặc 40-GlySer. Các trình tự ADN mã hóa của VHH được định dạng được tạo đơn dòng vào vectơ biểu hiện pAX172. VHH được biểu hiện trong Pichia pastoris như protein myc-His6 tag đầu C. Tóm lại, nuôi cấy BGCM được bắt đầu từ lớp khuẩn lạc đơn lẻ được ủ vào cuối tuần ở 30°C (250 vòng/phút). Sau khi môi trường chuyển thành BMCM, ủ môi trường nuôi cấy cho đến buổi tối ở 30°C (250 vòng/phút) và tiếp theo cảm biến bằng metanol 100%. Ngày tiếp theo, môi trường nuôi cấy được cảm biến 3 lần nữa (buổi sáng, buổi chiều, buổi tối). Ngày tiếp theo, ly tâm môi trường nuôi cấy trong 20 phút ở 4°C (1,500xg). VHH His6-tag có mặt trong dịch nổi được tinh chế qua sắc ký ái lực kim loại được giữ cố định (immobilized metal affinity chromatography-IMAC) tiếp theo bằng cách khử muối (desalting-DS) và cuối cùng, lọc gel (gel filtration-GF) để loại bỏ các nội độc tố/tạp chất bất kỳ. Toàn bộ dạng mẫu và trình tự của tất cả VHH hóa trị hai VHH được mô tả trên Fig.20 và Bảng 36-A (các trình tự cầu liên kết được gạch dưới), các SEQ ID No: từ 180 đến 185. Các mức biểu hiện được biểu thị trong Bảng 36-B.

Để thăm dò các đặc tính phong bế kháng Ang2 so với chất phong bế cấu trúc hóa trị một, VHH hóa trị hai được phân tích trong ELISA cạnh tranh Ang2/hTie2 của người (Fig.21-1), Ang2/mTie2 của chuột (Fig.21-2), Ang2/cTie2 của khỉ cyno (Fig.21-3) và Ang1/hTie2 của người (Fig.22). Bản tóm tắt các giá trị IC_{50} được thể hiện trong Bảng 37.

Bảng 36-A

Trình tự VHH hóa trị hai tạo đích Ang2	
VHH ID	Trình tự AA
ANGBII00001	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCSDGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCSDGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 180)

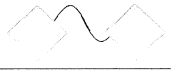
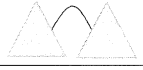
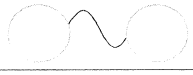
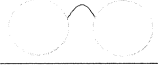
ANGBII00002	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSC IRCSDGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIV PRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALG WFRQAAGKEREGVSCIRCSDGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNS LKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 181)
ANGBII00003	EVQLVESGGGLVQVGDSLRLSCAASGRTFSTYLMVGWFRQAPGKEREFAA GIWSSGDTAYADSVRGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKTEDTAVYYCAGSY DGNYYIPGFYKDWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQVGDSL RLSCAASGRTFSTYLMVGWFRQAPGKEREFAAGIWSSGDTAYADSVRGRF TISRDNAKNTVYLQMNSLKTEDTAVYYCAGSYDGNYYIPGFYKDWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO: 182)
ANGBII00004	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSI RDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPA GRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADS VKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPL YEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 183)
ANGBII00005	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSI RDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPA GRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDD YAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 184)
ANGBII00006	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIR DNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAG RLRYGEQWYPIYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGITLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNGGSTYYADSVK GRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIYE YDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 185)

Bảng 36-B

VHH ID	Dạng mẫu	Biểu hiện (mg/L)
ANGBII00001		31

ANGBII00002		37
ANGBII00003		28
ANGBII00004		651
ANGBII00005		203
ANGBII00006		3

Bảng 37: Các giá trị IC_{50} (pM) trong ELISA cạnh tranh Ang2 của người/Tie2 của người, Ang2 của chuột/Tie2 của chuột, Ang2 của cyno/Tie2 của khỉ cyno và hAng1/hTie2.

		hAng2	mAng2	cAng2	Tỷ lệ hAng1/hAng2
VHH ID	Dạng mẫu	IC_{50} (pM)	IC_{50} (pM)	IC_{50} (pM)	
1D01		6,973	10,455	9,484	>10,800
ANGBII00001		11	18	27	n.d.
ANGBII00002		20	32	n.d.	n.d.
11B07		15,205	10,000	16,400	> 8,570
ANGBII00003		24	47	35	n.d.
00027		541	1,785	568	>14,878
ANGBII00004		17	33	34	n.d.
ANGBII00005		13	32	n.d.	n.d.
00908		52	85	79	>192,014
ANGBII00006		19	28	25	6,052,631
AMG386		4	3	10	5,600

n.d., không xác định

Ví dụ 10. Tạo cấu trúc, sản xuất và mô tả đặc điểm của VHH đặc hiệu kép hóa trị ba tạo đích VEGF và Ang2 bằng cách sử dụng abumin kháng huyết thanh để kéo dài chu kỳ bán thải

VHH VEGFBII00038 kháng VEGF (US 2011/0172398 A1) và VHH 00027 kháng Ang2 (SEQ ID No:216) được sử dụng làm chất phong bế cấu trúc để tạo ra VHH đặc hiệu kép VEGFANGBII00001-00004. Sự dung hợp di truyền với VHH gắn kết albumin huyết thanh được sử dụng làm phương pháp kéo dài chu kỳ bán thải. Chất phong bế cấu trúc được liên kết qua cầu liên kết linh hoạt ba Ala hoặc 9 Gly-Ser. VHH được tạo ra và được tinh chế như được mô tả trong Ví dụ 9. Toàn bộ dạng mẫu và trình tự của tất cả bốn VHH đặc hiệu kép được mô tả trên Fig.23 và Bảng 37-A (các trình tự cầu liên kết được gạch dưới), SEQ ID No: từ 186 đến 189. Các mức biểu hiện được biểu thị trong Bảng 38-B.

Bảng 38-A

Các trình tự VHH đặc hiệu kép tạo đích VEGF và Ang2	
VHH ID	Trình tự AA
VEGFANGBII00001	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREF VVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYY CASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVE SGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGG SLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCA ASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTIS SDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEY DAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 186)
VEGFANGBII00002	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKERE GVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGS EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLE WVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAV YYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSDVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSL EGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADT YEYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 187)
VEGFANGBII00003	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKERE GVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGS

	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREF VVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYY CASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVE SGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGG SLSRSSQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 188)
VEGFANGBII00004	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREF VVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYY CASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSAAAEVQLVESGGGLV QPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTL YADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQ GTLVTVSSAAAEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIG WFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO: 189)

Bảng 38-B

VHH ID	Dạng mẫu	Biểu hiện (mg/L)
VEGFANGBII00001		13,3
VEGFANGBII00002		11,3
VEGFANGBII00003		15,4
VEGFANGBII00004		19,2

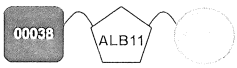
Để thăm dò các đặc tính phong bế kháng VEGF so với chất phong bế cấu trúc hóa trị một VEGFBII00038, tất cả bốn VHH đặc hiệu kép được phân tích trong AlphaScreen cạnh tranh VEGF/VEGFR2-Fc (Fig.22). Thử nghiệm này được điều chỉnh không đáng kể so với Ví dụ 12.3 được mô tả trong US 2011/0172398 A1. VEGF165 của người và VEGFR2-Fc của người được bổ sung vào ở 0,05nM. Thử nghiệm cạnh tranh này cũng được thực hiện sau khi ủ trước VHH bằng 25μM albumin huyết thanh của người. Bản tóm tắt các giá trị IC_{50} và % ức chế được thể hiện trong Bảng 39.

Bảng 39: Các giá trị IC_{50} (nM) trong AlphaScreen cạnh tranh VEGF165 của người/VEGFR2 của người

VHH ID	Dạng mẫu	HSA	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII00038		-	0,5	100
		+	0,5	100
VEGFANGBII00001		-	0,4	100
		+	0,6	100
VEGFANGBII00002		-	0,7	100
		+	1,2	100
VEGFANGBII00003		-	0,6	100
		+	1,3	100
VEGFANGBII00004		-	0,5	100
		+	0,7	100
Ranibizumab		-	0,8	100
		+	1,1	100

Để thăm dò các đặc tính phong bế kháng Ang2 so với chất phong bế cấu trúc hóa trị một 00027 (SEQ ID No:216), tất cả bốn VHH đặc hiệu kép được phân tích trong ELISA cạnh tranh Ang2 của người/hTie2-Fc (Fig.25). Thử nghiệm này cũng được thực hiện sau khi ủ VHH bằng 0,5μM albumin huyết thanh của người. Bản tóm tắt các giá trị IC_{50} được thể hiện trong Bảng 40.

Bảng 40: Giá trị IC_{50} (pM) trong ELISA cạnh tranh Ang2 của người/Tie2 của người

VHH ID	Dạng mẫu	HSA	IC_{50} (pM)
00027		-	516
		+	n.d.
VEGFANGBII00001		-	240
		+	179
VEGFANGBII00002		-	463
		+	330
VEGFANGBII00003		-	273
		+	154
VEGFANGBII00004		-	111
		+	92
AMG386		-	2
		+	n.d.

n.d., không xác định

Ví dụ 11. Tạo cấu trúc, sản xuất và mô tả đặc điểm của VHH đặc hiệu kép hóa trị ba và hóa trị bốn tạo đích VEGF và Ang2 bằng cách sử dụng albumin kháng huyết thanh gắn kết để kéo dài chu kỳ bán thải

Mười VHH đặc hiệu kép tạo đích VEGF và Ang2 được tạo cấu trúc (VEGFANGBII00005-00015). Trong các cấu trúc này, các chất phong bế cấu trúc 1D01 hóa trị một và hóa trị hai (SEQ ID NO:214), 7G08 hóa trị một và hóa trị hai (SEQ ID NO:215) và 00027 hóa trị hai (SEQ ID NO:216) kháng Ang2 được bao gồm. Sự dung hợp di truyền với VHH gắn kết albumin huyết thanh được sử dụng làm phương pháp kéo dài chu kỳ bán thải. Các chất phong bế cấu trúc được liên kết qua cầu liên kết linh hoạt 9 Gly-Ser. VHH được tạo ra và được tinh chế như được mô tả trong Ví dụ 8. Toàn bộ dạng mẫu và trình tự của tất cả mười VHH đặc hiệu kép được mô tả trên Fig.26 và Bảng 41-A (trình tự cầu liên kết được gạch dưới), SEQ ID No: từ 190 đến 199. Các mức biểu hiện được biểu thị trong Bảng 41-B.

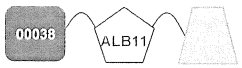
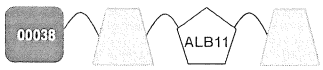
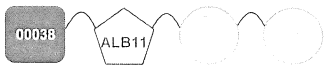
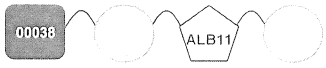
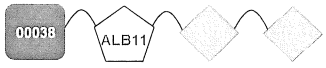
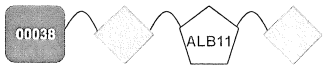
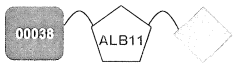
Bảng 41-A

Trình tự VHH đặc hiệu kép tạo đích VEGF và Ang2	
VHH ID	Trình tự AA
VEGFANGBII00005	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV VAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAS SRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFALDYYAIGWFRQVPGKEREGVSCISSSDGITYY VDSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCATDSGGYIDYDC MGLGYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRL SCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFT ISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 190)
VEGFANGBII00006	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV VAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAS SRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLY ADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALDYYAI GWFRQVPGKEREGVSCISSSDGITYYVDSVKGRFTISRDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYYCATDSGGYIDYDCMGLGYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 191)
VEGFANGBII00007	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV VAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAS SRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFALDYYAIGWFRQVPGKEREGVSCISSSDGITYY VDSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCATDSGGYIDYDC MGLGYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRL SCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFT ISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGG GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALDYYAIGWFRQVPG KEREGVSCISSSDGITYYVDSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDT AVYYCATDSGGYIDYDCMGLGYDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 192)
VEGFANGBII00008	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV VAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAS SRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYY ADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGE

	QWYPLYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGS LRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKG RFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLY EYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAA SGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRD NAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 193)
VEGFANGBII00009	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV VAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAS SRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLY ADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAI GWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSS GGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQ APGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKP EDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 194)
VEGFANGBII00010	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV VAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAS SRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYY ADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGE QWYPLYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNS LRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKG RFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSG GGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQA PGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPE DTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 195)
VEGFANGBII00011	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV VAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAS SRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCSDGSTY YADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEP YEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSC

	AASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCSDGSTYYADSVKGRFTIS SDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTL VTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMS WVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 196)
VEGFANGBII00012	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV VAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAS SRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLY ADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYA LGWFRQAAGKEREGVSCIRCSDGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYL QMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGK EREGVSCIRCSDGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTA VYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 197)
VEGFANGBII00013	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV VAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAS SRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCSDGSTY YADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEP YEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCA ASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSG GGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKER EGVSCIRCSDGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVY YCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 198)
VEGFANGBII00014	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFV VAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAS SRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLY ADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYA LGWFRQAAGKEREGVSCIRCSDGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYL QMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 199)

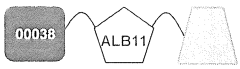
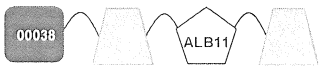
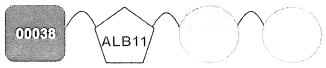
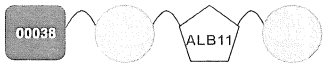
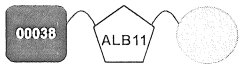
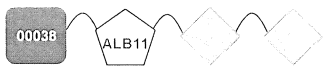
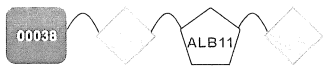
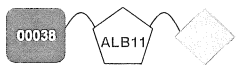
Bảng 41-B

VHH ID	Dạng mẫu	Biểu hiện (mg/L)
VEGFANGBII00005		1,3
VEGFANGBII00006		1,3
VEGFANGBII00007		0,3
VEGFANGBII00008		30,0
VEGFANGBII00009		71,4
VEGFANGBII00010		25,0
VEGFANGBII00011		4,0
VEGFANGBII00012		6,6
VEGFANGBII00013		2,9
VEGFANGBII00014		45,6

Để thăm dò các đặc tính phong bế kháng VEGF so với chất phong bế cấu trúc hóa trị một VEGFBII00038, tất cả mười VHH đặc hiệu kép được phân tích trong AlphaScreen cạnh tranh VEGF/VEGFR2-Fc (Ví dụ 10; Fig.27-1) và VEGF/VEGFR1 (Fig.27-2). Thử nghiệm VEGFR1 thực hiện tương tự Ví dụ 12.4 trong US 2011/0172398A1. VEGF165 của người và VEGFR1-Fc của người được bổ sung vào với nồng độ 0,05nM. Các thử nghiệm cạnh tranh này cũng được thực hiện sau khi đã ủ VHH trước với 25µM albumin huyết thanh của người. Kết quả giá trị IC_{50} được tổng hợp trong Bảng 42.

Bảng 42: Các giá trị IC_{50} (nM) trong AlphaScreen cạnh tranh VEGF165 của người/VEGFR2 của người và VEGF165 của người/VEGFR1 của người

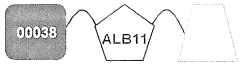
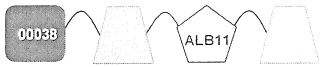
			VEGFR1		VEGFR2	
VHH ID	Dạng mẫu	HSA	IC_{50} (nM)	% ức chế	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII00038		-	0,6	67	0,5	100
		+	0,6	64	0,5	100

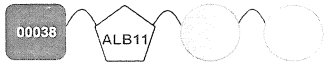
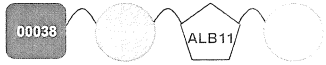
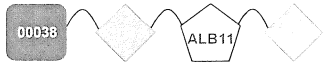
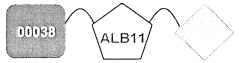
VEGFANGBII00005		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00006		-	0,8	64	1,0	100
		+	1,0	71	1,4	100
VEGFANGBII00007		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00008		-	0,6	77	0,3	100
		+	0,7	73	0,4	100
VEGFANGBII00009		-	0,8	71	0,4	100
		+	1,5	72	0,7	100
VEGFANGBII00010		-	0,5	72	0,3	100
		+	1,1	78	0,7	100
VEGFANGBII00001		-	0,6	68	0,4	100
		+	0,8	76	0,6	100
VEGFANGBII00011		-	0,8	74	0,9	100
		+	2,5	81	0,8	100
VEGFANGBII00012		-	1,0	74	0,4	100
		+	1,5	80	0,7	100
VEGFANGBII00013		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00014		-	0,8	69	0,4	100
		+	1,0	80	0,7	100
Ranibizumab		-	2,5	92	1,2	100
		+	5,3	86	1,1	100

n.d.: không xác định

Để thăm dò các đặc tính phong bế kháng Ang2 so với chất phong bế cấu trúc hóa trị một tương ứng 7G08 (SEQ ID No:215), 1D01 (SEQ ID No:214) và 00027 (SEQ ID No:216), tất cả mười VHH đặc hiệu kép được phân tích bằng ELISA cạnh tranh Ang2 của người/hTie2-Fc (xem Ví dụ 5.1; Fig.28-1), Ang2 của chuột/mTie2-Fc (xem Ví dụ 5.2; Fig.28-2) và Ang2 của cyno/cTie2-Fc (xem Ví dụ 5.2; Fig.28-3). Thử nghiệm của người cũng được tiến hành sau khi ủ VHH với 0,5μM albumin huyết thanh của người. Ngoài ra, thử nghiệm sự tồn tại của HUVEC thông qua hAng2 được thực hiện (xem Ví dụ 5.5; Fig.29). Bản tóm tắt các giá trị IC_{50} và % ức chế được thể hiện trong Bảng 43.

Bảng 43: Các giá trị IC_{50} (pM) và % ức chế trong ELISA cạnh tranh Ang2 của người/Tie2 của người, Ang2 của chuột/Tie2 của chuột và Ang2 của cyno/Tie2 của khỉ cyno và các giá trị IC_{50} (nM) và % ức chế trong sự tồn tại của HUVEC qua trung gian hAng2.

			hAng2		mAng2		cAng2		Sự tồn tại của HUVEC	
VHH ID	Dạng mẫu	HSA	IC_{50} (pM)	% ức chế	IC_{50} (pM)	% ức chế	IC_{50} (pM)	% ức chế	IC_{50} (nM)	% ức chế
7G08		+	110	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,5	100
		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00005		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00006		-	560	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,9	100
		+	400	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00007		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
AMG386		-	5	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,2	100
		+	4	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
00027		-	540	100	1,800	100	570	100	2,0	100
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00001		-	360	100	1,300	100	390	100	5,7	100
		+	290	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00008		-	47	100	71	100	79	100	5,6	100

		+	52	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00009		-	33	100	36	100	46	100	3,6	100
		+	39	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00010		-	32	100	78	100	59	100	n.d.	n.d.
		+	49	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
AMG386		-	5	100	4	100	3	100	1,3	100
		+	4	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
1D01		-	7,000	100	10,000	100	9,500	100	7,8	100
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00011		-	31	100	56	100	95	100	3,7	100
		+	34	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00012		-	40	100	68	100	100	100	3,6	100
		+	65	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00013		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00014		-	710	100	1,000	100	1,100	100	n.d.	n.d.
		+	1,200	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
AMG386		-	4	100	4	100	10	100	1,3	
		+	4	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d., không xác định

Các ái lực của albumin huyết thanh của người đã được xác định và được thể hiện trong Bảng 44. Tóm lại, albumin huyết thanh của người (Sigma, St Louis, MO, USA) được gắn cố định trên chip CM5 qua cặp đôi amin. Phương pháp động học đa chu trình được sử dụng: nồng độ VHH tăng (2-8-31-125-500nM) được tiêm và được cho phép kết hợp trong 2 phút và phân ly trong 10 phút ở tốc độ dòng 100µL/phút. Trong số các lần tiêm VHH, bề mặt được phục hồi bằng xung 10 giây 10mM Glycine-HCl độ pH = 1,5 và thời gian làm ổn định 60 giây. Các dữ liệu kết hợp/phân ly được đánh giá bằng cách làm thích hợp mô hình tương tác 1:1 (gắn kết Langmuir) hoặc mô hình Heterogeneous Ligand. Hằng số ái lực K_D được tính toán dựa trên hằng số kết hợp và phân ly thu được k_a và k_d (Bảng 44).

Bảng 44: Ái lực K_D của VHH được tinh chế đối với albumin huyết thanh của người (HSA), albumin huyết thanh của khỉ cyno (CSA) và albumin huyết thanh của chuột (MSA)

	HSA			CSA			MSA		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)
ALB11	4,5E+05	1,8E-03	4	4,3E+05	1,6E-03	4	6,6E+05	3,2E-02	49
VEGFANGBII00001	2,3E+05	4,8E-03	22	1,8E+05	4,3E-03	24	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00005	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00006	2,0E+05	4,6E-03	22	1,5E+05	4,5E-03	30	1,7E+05	6,0E-02	360
VEGFANGBII00007	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00008	1,3E+05	4,3E-03	34	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00009	1,5E+05	4,6E-03	30	1,1E+05	4,2E-03	39	1,2E+05	4,0E-02	340
VEGFANGBII00010	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00011	1,3E+05	4,0E-03	31	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00012	1,5E+05	4,3E-03	31	1,2E+05	4,2E-03	24	1,0E+05	2,5E-02	240
VEGFANGBII0013	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII0014	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d., không xác định

Ví dụ 12 (Ví dụ này bao gồm các phương án của sáng chế). Tạo cấu trúc, sản xuất và xác định đặc điểm của VHH đặc hiệu kép được tối ưu hóa trình tự và hoàn thiện về mặt ái lực tạo đích VEGF và Ang2 bằng cách sử dụng albumin kháng huyết thanh gắn kết để kéo dài chu kỳ bán thải

14 VHH đặc hiệu kép tạo đích VEGF và Ang2 được tạo cấu trúc (VEGFANGBII00015-00028). Trong các cấu trúc này, các chất phong bế cấu trúc 00921 hóa trị hai (biến thể 1D01 được làm tối ưu trình tự) (SEQ ID No:220), VHH hóa trị một 00908 – 00932 – 00933 – 00934 – 00935 – 00936 – 00937 – 00938 (các biến thể 28D10 được làm tối ưu trình tự/hoàn thiện về mặt ái lực) (SEQ ID No:222), 00956 hóa trị hai (SEQ ID NO:223) (biến thể 28D10 được làm tối ưu trình tự) và 00928 hóa trị một (SEQ ID NO:221) (biến thể 37F02 được làm tối ưu trình tự) kháng Ang2 được bao gồm. Sự dung hợp di truyền với VHH gắn kết albumin huyết thanh được sử dụng làm phương pháp kéo dài chu kỳ bán thải. Chất phong bế cấu trúc được liên kết qua liên kết linh hoạt 9 Gly-Ser. Toàn bộ dạng mẫu và trình tự của tất cả 14 VHH đặc hiệu kép được mô tả trên Fig.30 và Bảng 45-A (các trình tự cầu liên kết được gạch dưới), SEQ ID No: từ 200 đến 213.

Các mức biểu hiện được biểu thị trong Bảng 45-B.

Bảng 45-A

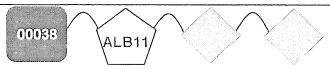
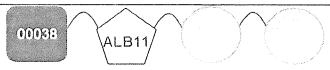
Các trình tự VHH đặc hiệu kép tạo đích VEGF và Ang2	
VHH ID	Trình tự AA
VEGFANGBII00015	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGITLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNGGSTYYADSVKGRFTI SSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIYEYDAWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 200)

VEGFANGBII00016	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAVSGITLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNGGSTYYADSVKGRFTI SSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIYEYDAWGQGT LVTVSS SEQ ID NO: 201)
VEGFANGBII00017	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGITLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRDNGGSTYYADSVKGRFT ISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIYEYDAWGQG TLVTVSS SEQ ID NO: 202)
VEGFANGBII00018	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGITLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRESGGSTYYADSVKGRFTI SSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIYEYDAWGQGT LVTVSS SEQ ID NO: 203)
VEGFANGBII00019	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGITLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRSSGGSTYYADSVKGRFTI SSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIYEYDAWGQGT LVTVSS SEQ ID NO: 204)
VEGFANGBII00020	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAVSGITLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRDNGGSTYYADSVKGRFT ISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIYEYDAWGQG TLVTVSS SEQ ID NO: 205)

VEGFANGBII00021	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAVSGITLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRESGGSTYYADSVKGRFTI SSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIYEYDAWGQGT LVTVSS SEQ ID NO: 206)
VEGFANGBII00022 Phương án của sáng chế	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAVSGITLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRSSGGSTYYADSVKGRFTI SSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIYEYDAWGQGT LVTVSS SEQ ID NO: 207)
VEGFANGBII00023	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRDNGGSTYYADSVKGRFT ISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQG TLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFR QAPGKEREGVSAIRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAV YYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSS SEQ ID NO: 208)
VEGFANGBII00024	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTL DDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQM NSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRD NGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFG EQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSC AASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKT TLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS SEQ ID NO: 209)

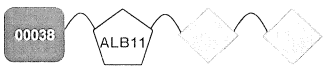
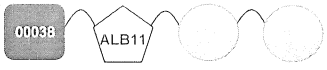
VEGFANGBII00025	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAPGKEREGVSCIRCSGGSTYYADSVKGRFT ISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSS GGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAPGKER EGVSCIRCSGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAASI VPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSS SEQ ID NO: 210)
VEGFANGBII00026	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF DDYALGWFRQAPGKEREGVSCIRCSGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQM NSLRPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQL VESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAPGKEREGVSCIRCSGGSTY YADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAW GQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMS WVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPED TAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS SEQ ID NO: 211)
VEGFANGBII00027	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFALDYYAIGWFRQAPGKEREGVSCISSSGGITYYADSVKGRFTI SRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCATDSGGYIDYDCSGLGYDYWGQGTLVT VSS SEQ ID NO: 212)
VEGFANGBII00028	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKG GYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLA DTYEYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF SSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRSSGGSTYYADSVKGRFTI SSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQ APGKEREGVSAIRSSGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVY YCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSS SEQ ID NO: 213)

Bảng 45-B

VHH ID	Dạng mẫu	Biểu hiện (mg/L)
VEGFANGBII00022		
VEGFANGBII00025		
VEGFANGBII00028		

Để thăm dò các đặc tính phong bế kháng VEGF so với chất phong bế cấu trúc hóa trị một VEGFBII00038, VHH đặc hiệu kép được phân tích trong AlphaScreen cạnh tranh VEGF/VEGFR2-Fc (Ví dụ 10; Fig.31-1) và VEGF/VEGFR1 (Ví dụ 11; Fig.31-2). Các thử nghiệm cạnh tranh này cũng được thực hiện sau khi ủ trước VHH với 25μM albumin huyết thanh của người. Bản tóm tắt các giá trị IC_{50} được thể hiện trong Bảng 46-A.

Bảng 46-A: Các giá trị IC_{50} (nM) trong AlphaScreen cạnh tranh VEGF165 của người/VEGFR2 của người và VEGF165 của người/VEGFR1 của người

			VEGFR1		VEGFR2	
VHH ID	Dạng mẫu	HSA	IC_{50} (nM)	% ức chế	IC_{50} (nM)	% ức chế
VEGFBII00038		-	0,4	57	0,2	100
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00022		-	0,4	64	0,2	100
		+	0,6	75	0,3	100
VEGFANGBII00025		-	0,6	68	0,2	100
		+	0,9	75	0,3	100
VEGFANGBII00028		-	0,5	64	0,2	100
		+	0,5	64	0,2	100
Ranibizumab		-	3,2	97	0,7	100
		+	n.d.	n.d.	0,9	100

n.d., không xác định

Động học gắn kết của VHH đặc hiệu kép đối với VEGF165 của người được phân tích bởi SPR trên dụng cụ Biacore T100 (xem Ví dụ 12.5 được mô tả trong US

2011/0172398 A1). VEGFBII00038 nanobody hóa trị một được thực hiện cùng nhau làm tham chiếu (Bảng 46-B).

Bảng 46-B: Toàn bộ thông số động học trong thử nghiệm hVEGF165 Biacore.

	ka1 (1/Ms)	kd1 (1/s)	ka2 (1/s)	kd2 (1/s)	KD1 (M)
VEGFBII00038	2,6E+05	1,3E-02	1,3E-02	1,9E-04	7,5E-10
VEGFANGBII00022	1,6E+05	1,4E-02	1,4E-02	2,2E-04	1,4E-09
VEGFANGBII00025	1,1E+05	1,4E-02	1,4E-02	2,1E-04	1,9E-09
VEGFANGBII00028	1,7E+05	1,3E-02	1,3E-02	2,1E-04	1,1E-09

Khả năng của VHH gắn kết với đồng đẳng VEGF121 của người được xác định trong ELISA gắn kết. Sự gắn kết của dãy pha loãng của VHH với VEGF121 của người được phủ trực tiếp 1µg/mL (R&D) (VEGF165 của người làm tham chiếu) được phát hiện bằng cách sử dụng 1A4 kháng VHH được biotinyl hóa tiếp theo bởi extravidin-HRP. 1A4 là VHH kháng VHH VHH (được tạo ra nội bộ bởi Ablynx NV). Avastin điểm chuẩn có tác dụng làm đối chứng dương tính và được phát hiện bằng cách sử dụng HRP tiếp hợp kháng thể kháng Fc của người. VHH không liên quan có tác dụng làm đối chứng âm tính. Các đường cong đáp ứng gắn kết đại diện đối với VEGF165 và VEGF121 được thể hiện trên Fig.46, các giá trị EC_{50} tương ứng được tổng kết trong Bảng 46-C.

Bảng 46-C: Toàn bộ giá trị EC_{50} trong ELISA gắn kết hVEGF165 và hVEGF121.

	hVEGF165	hVEGF121
	EC_{50} (M)	*EC_{50} (M)*
VEGFANGBII00022	1,4E-09	2,3E-09
VEGFANGBII00025	1,5E-09	2,5E-09
VEGFANGBII00028	1,2E-09	2,1E-09

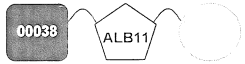
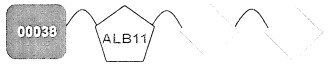
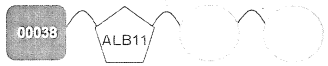
Sự gắn kết với VEGF164 của chuột nhắt và chuột cống được đánh giá trong ELISA gắn kết. VHH gắn kết với VEGF164 của chuột cống hoặc chuột nhắt được phủ trực tiếp 1µg/mL VEGF164 (R&D) được phát hiện bằng cách sử dụng 1A4 kháng VHH được biotinyl hóa tiếp theo bởi extravidin-HRP. Đối với đối chứng dương tính, kháng thể đơn dòng B20-4.1 phản ứng ngang chuột cống/chuột nhắt (Genentech) được chuẩn độ và được phát hiện bằng HRP tiếp hợp kháng thể kháng Fc của người. VHH

không liên quan có tác dụng làm đối chứng âm tính. Các kết quả được thể hiện trên Fig.33. Tất cả 3 VHH đặc hiệu kép không phản ứng tương đương với VEGF của chuột cống hoặc chuột nhắt.

Sự gắn kết với VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D và PlGF của người được đánh giá qua ELISA gắn kết. Sự gắn kết của VHH với VEGF-B (R&D), VEGF-C (R&D), VEGF-D (R&D) và PlGF (R&D) được phủ trực tiếp 1µg/mL bằng cách sử dụng 1A4 kháng VHH được biotinyl hóa tiếp theo bởi extravidin-HRP. Đối với đối chứng dương tính, dãy pha loãng gồm các thụ thể thích hợp (hVEGFR1-Fc đối với hVEGF-B và hPlGF, hVEGFR2-Fc đối với hVEGF-C, mAb kháng hVEGF-D (R&D) đối với hVEGF-D) được thực hiện cùng nhau. VHH không liên quan có tác dụng làm đối chứng âm tính. Các kết quả được thể hiện trên Fig.34. Tất cả 3 VHH đặc hiệu kép không gắn kết với các thành viên của họ VEGF.

Để thăm dò các đặc tính gắn kết kháng Ang2 so với chất phong bế cấu trúc hóa trị một tương ứng 00921 (SEQ ID NO:220) và 00938 (SEQ ID NO:222), tất cả 3 VHH đặc hiệu kép được phân tích trong ELISA cạnh tranh Ang2 của người/hTie2-Fc (xem Ví dụ 5.1; Fig.35-1), Ang2 của chuột/mTie2-Fc (xem Ví dụ 5.2; Fig.35-2) và Ang2 của khỉ cyno /cTie2-Fc (xem Ví dụ 5.2; Fig. 35-3). Thử nghiệm của người cũng được thực hiện sua khi ủ VHH bằng 0,5µM albumin huyết thanh của người. Ngoài ra, VHH đặc hiệu kép được thử nghiệm trong ELISA cạnh tranh hAng1/hTie2 (xem Ví dụ 5.3; Fig.36) và thử nghiệm sự tồn tại của HUVEC qua trung gian Ang2 (xem Ví dụ 5.5; Fig.37). Bản tóm tắt các giá trị IC_{50} và % ức chế được thể hiện trong Bảng 47-A.

Bảng 47-A: Các giá trị IC_{50} (pM) trong ELISA cạnh tranh Ang2 của người/Tie2 của người, Ang2 của chuột/Tie2 của chuột và Ang2 của cyno/Tie2 của cyno, hAng1 ELISA và các giá trị IC_{50} (nM) trong thử nghiệm sự tồn tại của HUVEC qua trung gian hAng2

			ELISA							Sự tồn tại của HUVEC	
			Ang2		mAng2		cAng2		hAng1		
VHH ID	Dạng mẫu	HSA	IC_{50} (pM)	% ức chế	IC_{50} (pM)	% ức chế	IC_{50} (pM)	% ức chế	Tỷ lệ IC_{50} hAng1/hAng2	IC50 (nM)	% ức chế
00938		-	33	100	58	100	86	100	> 60,395	4,3	100
VEGFANGBII00022		-	50	100	56	100	101	100	> 39,902	1,9	100
		+	45	100	68	100	115	100	> 44,771	n.d.	n.d.
AMG386		-	5	100	2	100	13	100	5,656	1,4	100
00921		-	15,940	100	27,990	100	43,500	100	> 125	18,8	100
VEGFANGBII00025		-	12	100	15	100	38	100	> 160,694	2,2	100
		+	15	100	17	100	37	100	> 133,660	n.d.	n.d.
AMG386		-	5	100	2	100	15	100	5,632	1,2	100
00956		-	1,010	100	1,816	100	1,294	100	> 1,979	6,8	100
VEGFANGBII00028		-	30	100	72	100	65	100	> 66,222	3,7	100
		+	39	100	69	100	78	100	> 50,816	n.d.	n.d.
AMG386		-	4	100	3	100	14	100	5,194	1,0	100

n.d., không xác định

Ái lực của VEGFANGBII00022-25-28 đối với Ang2 của người, chuột nhắt, khỉ cyno và chuột cống (xem Ví dụ 5.4) được xác định và được thể hiện trong Bảng 47-B.

Bảng 47-B: Ái lực KD của VHH được tinh chế đối với Ang2 tái tổ hợp của người, khỉ cyno, chuột nhắt và chuột cống

	Ang2-FLD của người			Ang2-FLD của khỉ cyno		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
VEGFANGBII00022	9,7E+05	1,5E-05	1,6E-11	1,5E+06	1,3E-05	8,1E-12
VEGFANGBII00025	2,7E+06	1,2E-02	4,5E-09	4,3E+06	1,1E-02	2,7E-09
VEGFANGBII00028	5,9E+05	9,6E-04	1,6E-09	8,4E+05	8,7E-04	1,0E-09

	Ang2-FLD của chuột nhắt			Ang2-FLD chuột cống		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
VEGFANGBII00022	5,5E+05	2,8E-05	5,1E-11	3,9E+05	3,8E-05	9,9E-11
VEGFANGBII00025	1,3E+06	1,4E-02	1,1E-08	8,7E+05	2,9E-02	3,3E-08
VEGFANGBII00028	3,6E+05	2,0E-03	5,6E-09	2,5E+05	3,1E-03	1,2E-08

Ái lực của VEGFANGBII00022-25-28 đối với albumin huyết thay của người, chuột nhắt và khỉ cyno đã được xác định (Ví dụ 11) và được thể hiện trong Bảng 48. Hằng số ái lực K_D được tính toán dựa trên hằng số tốc độ kết hợp và phân ly thu được k_a và k_d (Bảng 48).

Bảng 48: Ái lực KD (nM) của VHH được tinh chế đối với albumin huyết thanh tái tổ hợp của người, chuột nhắt và bằng cách sử dụng (A) mô hình tương tác 1:1 hoặc (B) mô hình phối tử không đồng nhất

(A)	HSA			CSA		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)
ALB11	5,6E+05	1,9E-03	4	4,5E+05	1,7E-03	4
VEGFANGBII00022	6,7E+05	6,0E-03	9	6,2E+05	5,4E-03	9
VEGFANGBII00025	5,6E+05	5,6E-03	12	4,3E+05	5,1E-03	12
VEGFANGBII00028	5,6E+05	5,8E-03	10	5,2E+05	5,3E-03	10

	MSA		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)
ALB11	5,9E+05	3,0E-02	51
VEGFANGBII00022	5,2E+05	5,4E-03	150
VEGFANGBII00025	-	-	-
VEGFANGBII00028	-	-	-

(B)	MSA					
	k_{a1} (1/Ms)	k_{d1} (1/s)	k_{a2} (1/s)	k_{d2} (1/s)	K_{D1} (nM)	K_{D2} (nM)
VEGFANGBII00025	6,2E+05	9,9E-02	4,7E+04	5,7E-04	160 *	12
VEGFANGBII00028	5,9E+04	6,9E-04	5,7E+05	9,4E-02	12	160 *

* mô tả sự tương tác 70% hoặc lớn hơn

Các hợp phần gắn kết Ang2 (Bảng 49)

(1D01 (SEQ ID No: 214); 7G08 (SEQ ID No:215); 027 (SEQ ID No:216); 00042 (SEQ ID No:217); 00050 (SEQ DI No:218); 00045 (SEQ ID No:219); 00921 (SEQ ID No:220); 00928 (SEQ ID No:221); 00938 (SEQ ID No:222); 00956 (SEQ ID No:223)

	FR1	CDR1	FR2	CDR2
1D01	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFD	DYALG	WFRQAAGKEREGVS	CIRCSDGSTYYADSVKG
7G08	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALD	YYAIG	WFRQVPGKEREGVS	CISSSDGITYYVDSVKG
027	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLD	DYAIG	WFRQAPGKEREGVS	CIRDSDGSTYYADSVKG

	FR3	CDR3	FR4
1D01	RFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAA	SIVPRSKLEPYEYDA	WGQGTQVTVSS
7G08	RFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAT	DSGGYIDYDCMGLGYDY	WGQGTQVTVSS
027	RFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAA	VPAGRLRFGEQWYPLYEYDA	WGQGTQVTVSS

	FR1	CDR1	FR2	CDR2
00042	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLD	DYAIG	WFRQAPGKEREGVS	SIRDNDGSTYYADSVKG
00050	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFD	DYALG	WFRQAPGKEREGVS	CIRCSDGSTYYADSVKG
00045	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALD	YYAIG	WFRQAPGKEREGVS	CISSSDGITYYADSVKG

	FR3	CDR3	FR4
00042	RFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA	VPAGRLRFGEQWYPLYEYDA	WGQGTLVTVSS
00050	RFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA	SIVPRSKLEPYEYDA	WGQGTLVTVSS
00045	RFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAT	DSGGYIDYDCMGLGYDY	WGQGTLVTVSS

	FR1	CDR1	FR2	CDR2
00921	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFD	DYALG	WFRQAPGKEREGVS	CIRCSGGSTYYADSVKG
00928	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALD	YYAIG	WFRQAPGKEREGVS	CISSSGGITYYADSVKG
00938	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGITLD	DYAIG	WFRQAPGKEREGVS	AIRSSGGSTYYADSVKG
00956	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLD	DYAIG	WFRQAPGKEREGVS	AIRSSGGSTYYADSVKG

	FR3	CDR3	FR4
00921	RFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA	SIVPRSKLEPYEYDA	WGQGTLVTVSS
00928	RFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAT	DSGGYIDYDCSGLGYDY	WGQGTLVTVSS
00938	RFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA	VPAGRLRYGEQWYPIYEYDA	WGQGTLVTVSS
00956	RFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA	VPAGRLRFGEQWYPLYEYDA	WGQGTLVTVSS

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phân tử gắn kết đặc hiệu kép bao gồm:

- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu (VEGF),

- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với albumin huyết thanh,

- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với Ang2,

trong đó:

- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với VEGF này có trình tự CDR sau:

CDR1: SYSMG

CDR2: AISKGGYKYDAVSLEG

CDR3: SRAYGSSRLRLADTYEY,

- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với albumin huyết thanh này có trình tự CDR sau:

CDR1: SFGMS (SEQ ID NO:255)

CDR2: SISGSGSDTLYADSVKG (SEQ ID NO:256)

CDR3: GGSLSR (SEQ ID NO:257),

- miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với Ang2 này có trình tự CDR sau:

CDR1: DYAIG (SEQ ID NO:248)

CDR2: AIRSSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:249)

CDR3: VPAGRLRYGEQWYPIYEYDA (SEQ ID NO:250),

trong đó miền biến đổi đơn globulin miễn dịch gắn kết với Ang2 này gắn kết Ang2 với ái lực gắn kết lớn hơn ít nhất 5.000 lần so với ái lực gắn kết với Ang1 hoặc với Ang4.

2. Phân tử gắn kết đặc hiệu kép theo điểm 1, trong đó miền biến đổi đơn globulin miễn dịch này là VHH.

3. Phân tử gắn kết đặc hiệu kép có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 207 (VEGFANGBII00022).

4. Phân tử axit nucleic mã hóa phân tử gắn kết đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3.

5. Vectơ chứa phân tử axit nucleic theo điểm 4.

6. Tế bào chủ chứa vectơ theo điểm 5.

7. Dược phẩm chứa ít nhất một phân tử gắn kết đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3 làm hoạt chất.

8. Phương pháp sản xuất phân tử gắn kết đặc hiệu kép theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

- nuôi cấy tế bào chủ theo điểm 6 trong các điều kiện mà cho phép biểu hiện phân tử gắn kết đặc hiệu kép; và

- thu hồi hoặc phân lập phân tử gắn kết đặc hiệu kép được biểu hiện bởi tế bào chủ từ môi trường nuôi cấy.

9. Phương pháp theo điểm 8, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước:

- tinh chế tiếp hoặc làm thay đổi hoặc tạo ra phân tử gắn kết đặc hiệu kép.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Boehringer Ingelheim International GmbH

<120> PHÂN TỬ GẮN KẾT ĐẶC HIỆU KÉP GẮN KẾT VỚI YẾU TỐ TĂNG TRƯỞNG NỘI MẠC MẠCH MÁU (VEGF) VÀ ANGIOPOIETIN2 (ANG2), DƯỢC PHẨM VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT PHÂN TỬ NÀY

<130> 12-0332-pct

<160> 275

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<220>
<221> MISC_DẤU HIỆU
<222> (5)..(5)
<223> Xaa có thể là Gly hoặc Ala

<220>
<221> MISC_DẤU HIỆU
<222> (7)..(7)
<223> Xaa có thể là Ser hoặc Gly

<220>
<221> MISC_DẤU HIỆU
<222> (12)..(12)
<223> Xaa có thể là Gly, Ala hoặc Pro

<220>
<221> MISC_DẤU HIỆU
<222> (13)..(13)
<223> Xaa có thể là Asp hoặc Gly

<220>
<221> MISC_DẤU HIỆU
<222> (16)..(16)
<223> Xaa có thể là Asp hoặc Glu

<400> 1

Ser Arg Ala Tyr Xaa Ser Xaa Arg Leu Arg Leu Xaa Xaa Thr Tyr Xaa
1 5 10 15

Tyr

<210> 2
<211> 17
<212> PRT

<213> Lạc đà không bướu

<400> 2

Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Gly Asp Thr Tyr Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 3
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 3

Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 4
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 4

Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu
1 5 10 15

Tyr

<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 5

Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Gly Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 6

<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 6

Ser Arg Ala Tyr Ala Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 7
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 7

Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Pro Asp Thr Tyr Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 8
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 8

Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Pro Gly Thr Tyr Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 9
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

```
Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
    50                  55                  60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
            100                 105                 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 10
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 10

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1               5                   10                  15

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

Ser Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110
```

```
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125


<210>  11
<211>  126
<212>  PRT
<213>  Lạc đà không bướu

<400>  11

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1               5                  10                  15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
    50                  55                  60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
            100                 105                 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125


<210>  12
<211>  126
<212>  PRT
<213>  Lạc đà không bướu

<400>  12

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Asn Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Gly Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 13
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 13

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Ala Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr

100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 14
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 14

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 15
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 15

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 16
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 16

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Asn Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 17
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 17

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Pro Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 18
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 18

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 19
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 19

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 20
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 20

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Glu Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 21
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 21

Glu Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 22
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 22

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Asn Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

```
Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Gly Asp Thr
            100                 105                 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125


<210>  23
<211>  126
<212>  PRT
<213>  Lạc đà không bướu

<400>  23

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1               5                   10                  15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
    50                  55                  60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
            100                 105                 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125


<210>  24
<211>  126
<212>  PRT
<213>  Lạc đà không bướu

<400>  24

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1               5                   10                  15
```

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Pro Gly Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 25
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 25

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 26
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 26

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Gln Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Gly Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 27
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 27

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp

1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 28
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 28

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ile Ala Ser Gly Arg Thr Ser Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 29
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 29

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Asn Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Gly Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Arg Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 30
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 30

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
    50                  55                  60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
            100                 105                 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 31
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 31

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1               5                  10                  15

Pro Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
    50                  55                  60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80
```

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 32
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 32

Glu Val Pro Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Asn Tyr Lys Tyr Asp Ser Ala Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Gly Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 33
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 33

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1               5                  10                  15

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

Ser Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 34
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 34

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1               5                  10                  15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
    50                  55                  60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Ala Val Tyr
65                  70                  75                  80
```

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 35
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 35

Glu Val Gln Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 36
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 36

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 37
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 37

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 38
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 38

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 39
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 39

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 40
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 40

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 41
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 41

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 42
<211> 126
<212> PRT

<213> Lạc đà không bướu

<400> 42

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Arg Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 43
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 43

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

```
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Ala Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 44
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 44

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Asp
1               5                   10                  15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
    50                  55                  60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

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

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
            100                 105                 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 45
<211> 126

<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 45

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Glu Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Asn Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Gly Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 46
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 46

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ala Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asp Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 47
<211> 125
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 47

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 48
<211> 125
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 48

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 49
<211> 125
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 49

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 50
<211> 125
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 50

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 51
<211> 125
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 51

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 52
<211> 125
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 52

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 53
<211> 125
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 53

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 54
<211> 125
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 54

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

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

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

```
Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125


<210>  55
<211>  125
<212>  PRT
<213>  Nhân tạo

<220>
<223>  Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400>  55

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1               5                  10                  15


Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30


Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45


Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60


Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80


Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95


Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110


Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125


<210>  56
<211>  125
<212>  PRT
<213>  Nhân tạo

<220>
<223>  Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400>  56
```

```
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 57
<211> 125
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 57

```
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60
```

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 58
<211> 122
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 58

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Gly Ser Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ser Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Glu Tyr Ser Asn Thr Tyr Cys Ser Asp Ser Val Arg
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Pro Thr Ile Leu Leu Thr Thr Glu Gln Trp Tyr Lys Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 59
<211> 126
<212> PRT

<213> Lạc đà không bướu

<400> 59

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Thr Gly Arg Thr Phe Arg Ala Ser
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Ser Gly Leu Ser Thr Phe Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Asp Asn Gly Ala Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Ser Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Arg Ile Pro Ser Ser Ser Arg Phe Ser Ser Pro Ala Ala
100 105 110

Tyr Ala Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 60
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 60

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Thr Ser Ile Tyr Thr Ile Thr
20 25 30

Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Trp Ser Ala Pro Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Arg Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Phe Lys Gly Arg Ser Ile Val Thr Pro Ser Asp Tyr
100 105 110

Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 61
<211> 111
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 61

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ala Val Gly Asp Ile
20 25 30

Thr Val Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Ile Gln Arg Gln Leu Val
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Pro Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Trp Asp Phe Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Gln Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 62
<211> 128
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 62

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Asp
            20                  25                  30

Asp Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Tyr Thr Ser Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Arg Ser Arg Pro Leu Gly Ala Gly Ala Trp Tyr Ser Gly Glu
            100                 105                 110

Lys His Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 63
<211> 121
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 63

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Asp
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Phe Ser His Tyr
            20                  25                  30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Ser Ile Arg Gly Gly Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Asn Ser Val
    50                  55                  60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80
```

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Ala Phe Tyr Arg Gly Pro Tyr Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 64
<211> 113
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 64

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Arg Phe Met Ser Met
20 25 30

Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys His Arg Glu Leu Val Ala Arg
35 40 45

Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
50 55 60

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 65
<211> 116
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 65

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Ser Asn Asn
20 25 30

Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Ala Ala Tyr Arg Thr Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 66
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Thr Ser Ile Tyr Ser Ile Thr
20 25 30

Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Ser Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Trp Ser Ala Pro Ser Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Phe Lys Gly Arg Ser Ile Val Thr Arg Ser Asp Tyr
100 105 110

Lys Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 67
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 67

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Thr Ser Ile Tyr Ser Ile Ser
20 25 30

Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Ala Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Trp Ser Ala Pro Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Phe Lys Gly Arg Ser Ile Val Thr Arg Ser Asp Tyr
100 105 110

Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 68
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 68

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly
1 5 10 15

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

Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Ala Ile Asn Gln Arg Gly Ser Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Ser Val Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Thr Trp Tyr Gly Tyr Ser Thr Tyr Ala Arg Arg Glu Glu
100 105 110

Tyr Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 69
<211> 123
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 69

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Phe Ser Asp Asn
20 25 30

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala His Ile Ser Arg Gly Gly Ser Arg Thr Glu Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Lys Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Thr Ala Arg Pro Tyr Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 70
<211> 121
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 70

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Thr Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Trp Asn Lys Ile Ser Thr Ile Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Asn Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Ala Ser Arg Pro Thr Leu Arg Ile Pro Gln Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 71
<211> 115
<212> PRT

<213> Lạc đà không bướu

<400> 71

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Val Arg Ser Asp
20 25 30

Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Phe Ile Arg Ser Leu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Ala Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Ala Arg Phe Ser Gly Glu Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 72
<211> 124
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 72

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

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

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Arg Glu Arg Glu Phe Leu
35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Ser Ala Gly Asp Thr Gln Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Val Asn
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Gly Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Arg Gln Trp Gly Gly Thr Tyr Tyr Tyr His Gly Ser Tyr Ala
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 73
<211> 113
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 73

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Arg Phe Met Ser Met
20 25 30

Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys His Arg Glu Leu Val Ala Arg
35 40 45

Ile Ser Ser Glu Gly Thr Thr Ala Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
50 55 60

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 74
<211> 128

<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 74

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Asp
20 25 30

Asp Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Tyr Thr Ser Asp Ser Val
50 55 60

Ala Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Arg Ser Arg Pro Leu Gly Ala Gly Ala Trp Tyr Thr Gly Glu
100 105 110

Thr Arg Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 75
<211> 122
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 75

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Ser Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ile Ala Ile Ser Glu Tyr Asp Asn Val Tyr Thr Ala Asp Ser Val Arg
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Pro Thr Ile Leu Leu Ser Thr Asp Glu Trp Tyr Lys Tyr Trp
100 105 110

Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 76
<211> 128
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 76

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Asp
20 25 30

Asp Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Tyr Thr Ser Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Arg Ser Arg Pro Leu Gly Ala Gly Ala Trp Tyr Thr Gly Glu
100 105 110

Thr Arg Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 77

<211> 127
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 77

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Arg Ala Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Val Pro Gly Arg Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Thr Arg Ser Pro Ser Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ile Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala His Tyr Trp Asn Ser Asp Ser Tyr Thr Tyr Thr Asp Ser Arg
100 105 110

Trp Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 78
<211> 124
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 78

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

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

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Val Leu Val
35 40 45

Ala Asp Ile Ser Ser Ser Gly Ile Asn Thr Tyr Val Ala Asp Ala Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ala Trp Trp Tyr Ser Gln Met Ala Arg Asp Asn Tyr Arg
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 79
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 79

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Thr Leu Ser Arg Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ser Ile Asn Thr Ser Gly Lys Arg Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Met
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Phe Phe Gly Ser Asp Ser Asn Glu Pro Arg Ala Tyr
100 105 110

Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 80
<211> 123
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 80

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Glu
1 5 10 15

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

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Thr Ile Arg His His Gly Tyr Asp Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Ser Cys
85 90 95

Ala Lys Lys Leu Phe Trp Asp Met Asp Pro Lys Thr Gly Phe Ser Ser
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 81
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 81

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

```
Ala Ala Ile Gly Trp Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Val Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Lys Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Lys Val Arg Asn Phe Asn Ser Asp Trp Asp Leu Leu Thr Ser
            100                 105                 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 82
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 82

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Met Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ala Leu Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Arg Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Arg Ile Ser Trp Ser Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Gly Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Gln Thr Thr Ser Lys Tyr Asp Asn Tyr Asp Ala Arg Ala Tyr
            100                 105                 110

Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 83
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 83

Glu Glu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Met Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ala Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Arg Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Arg Ile Ser Trp Ser Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Gly Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gln Thr Thr Ser Lys Tyr Asp Asn Tyr Asp Ala Arg Ala Tyr
100 105 110

Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 84
<211> 123
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 84

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Gln Ser Gly Tyr Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asn
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Pro Phe Tyr Ser Tyr Gly Ser Pro Ser Pro Tyr Arg Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 85
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 85

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ser Ser Gly Arg Leu Phe Ser Phe Ser
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Phe Lys Trp Ser Gly Ser Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Tyr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Thr Asp Asn Ala Lys Asn Ile Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Arg Phe Tyr Thr Gly Arg Tyr Tyr Ser Ser Asp Glu Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 86
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 86

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Thr Ser Ile Tyr Ser Ile Thr
20 25 30

Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Trp Ser Ala Pro Ser Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Val Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Phe Lys Gly Arg Ser Ile Val Thr Arg Ser Asp Tyr
100 105 110

Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 87
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 87

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Phe Ser Ser Leu
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Val Pro Gly Lys Asp Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Gln Ser Gly Ile Thr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Leu Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Ser Val Phe Tyr Ser Thr Ala Leu Thr Arg Pro Val Asp Tyr
100 105 110

Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 88
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 88

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Thr Ser Ile Tyr Ser Ile Thr
20 25 30

Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Trp Ser Ala Pro Thr Thr Tyr Ser Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Phe Lys Gly Arg Ser Ile Val Thr Arg Ser Asp Tyr
100 105 110

Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 89
<211> 129
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 89

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

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

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Asn Asp Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Ser Arg Asp Gly Pro Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Thr Lys Asn Lys Ile Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Met Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Val Asp Leu Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 90
<211> 117
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 90

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Ser

20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Ser Val Ser Thr Asp Asn Ala Asn Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Ser Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Gly Ala Pro Asn Tyr Thr Pro Arg Gly Arg Gly Thr Gln
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91
<211> 115
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 91

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Val Arg Ser Asp
20 25 30

Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Phe Ile Arg Ser Leu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Ala Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Ala Arg Phe Ser Gly Glu Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 92
<211> 129
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 92

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

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

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Ser Thr Asn Gly Pro Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Thr Lys Asn Lys Val Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Val Ala Leu Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 93
<211> 124
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 93

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Asp
1               5                  10                  15

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

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Arg Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Thr Trp Ser Ala Gly Asp Thr Gln Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Val Asn
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Gly Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Gly Arg Gln Trp Gly Gly Thr Tyr Tyr Tyr His Gly Ser Tyr Ala
            100                 105                 110

Trp Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 94
<211> 128
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 94

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Glu Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Asp
            20                  25                  30

Asp Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Tyr Thr Ser Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65                  70                  75                  80
```

```
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Arg Ser Arg Pro Leu Gly Ala Gly Ala Trp Tyr Thr Gly Glu
            100                 105                 110

Asn Tyr Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 95
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 95

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Ser Gly Tyr
            20                  25                  30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Thr Ala Ile Thr Trp Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Ser Pro Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Asn Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ser Gly Arg Ile Trp Arg Ser Arg Asp Tyr Asp Ser Glu Lys Tyr
            100                 105                 110

Tyr Asp Ile Trp Gly His Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 96
<211> 129
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 96

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
            20                  25                  30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Ser Trp Thr Asn Ser Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Val Asp Arg Arg Arg Thr Tyr Ser Arg Trp Arg Phe Tyr Thr Gly
            100                 105                 110

Val Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
        115                 120                 125

Ser
```

<210> 97
<211> 129
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 97

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
            20                  25                  30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Ser Trp Ser Gly Gly Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
```

Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Pro Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Arg Arg Arg Ala Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Asp Tyr Glu Phe Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 98
<211> 129
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 98

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Ser Gly Gly Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Arg Arg Arg Leu Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser

115 120 125

Ser

<210> 99
<211> 129
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 99

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Thr Gly Gly Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Thr Val Ser
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Arg Arg Arg Thr Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 100
<211> 129
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 100

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Thr Gly Asp Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Thr Val Ser
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Arg Arg Thr Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 101
<211> 123
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 101

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

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

Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Arg Thr Gly Asp Arg Thr Ser Tyr Ala Asn Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Ser Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Pro Ile Ala Pro Ser Pro Arg Pro Arg Glu Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 102
<211> 129
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 102

Glu Val Gln Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Thr Gly Gly Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Thr Val Ser
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Arg Arg Arg Thr Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 103
<211> 129
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 103

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Ser Gly Gly Met Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr Gln Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Gly Arg Arg Arg Ala Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 104
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 104

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

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

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val
35 40 45

Ala His Ile Asn Arg Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Arg Tyr Tyr Ser Ser Asp Gly Val Pro Ser Ala Ser Phe
100 105 110

Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 105
<211> 128
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 105

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Phe Thr Ser Ala Arg Thr Phe Asp Thr Trp
20 25 30

Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Ile
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Trp Ser Gly Ser Met Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Gln Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Asn Thr Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Lys Thr Val Asp Tyr Cys Ser Ala Tyr Glu Cys Tyr Ala Arg
100 105 110

Leu Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Ala Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 106
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 106

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Met Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Arg Phe Thr Ser Thr
20 25 30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Gly Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Leu Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Glu Ala Val Lys
50 55 60

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

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

Ala Asp Pro Ser Tyr Tyr Ser Thr Ser Arg Tyr Thr Lys Ala Thr Glu
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 107
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 107

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

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

Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Thr Pro Gly Thr Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Arg Trp Thr Val Asn Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Val Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gln Thr Ser Ala Pro Arg Ser Leu Ile Arg Met Ser Asn Glu
100 105 110

Tyr Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 108
<211> 123
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 108

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Leu Tyr
20 25 30

Thr Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Arg Ser Gly Ser Asn Arg Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Ser Arg Gly Leu Ser Ser Leu Ala Gly Glu Tyr Asn Tyr

100 105 110

Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 109
<211> 123
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 109

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

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

Arg Met Gly Trp Phe Arg Arg Thr Pro Gly Lys Glu Asp Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Trp Thr Tyr Gly Ser Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Ala Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Ala Gln Ser Asp Arg Tyr Asn Ile Arg Ser Tyr Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 110
<211> 115
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 110

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Ser

20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Pro Pro Val Gly His Phe Ala Asn Tyr Ala Pro Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Ala Gly Arg Thr Lys Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 111
<211> 124
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 111

Lys Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Arg Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Asp Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Arg Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Arg Ser Ser Thr Ile Val Val Gly Val Gly Gly Met Glu
100 105 110

Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 112
<211> 128
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 112

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Asp Tyr
20 25 30

Asp Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Thr Thr Asp Val Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asp Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Thr Gln Asp Leu Gly Leu Asp Ile Phe Cys Arg Gly Asn
100 105 110

Gly Pro Phe Asp Gly Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 113
<211> 134
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 113

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Leu Asn Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Ser Ser Tyr Asp Ser Val Thr Tyr Tyr Ala Asp His Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Ile Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Glu Arg Glu Gln Leu Arg Arg Arg Glu Ser Pro His Asp Glu
100 105 110

Leu Leu Arg Leu Cys Phe Tyr Gly Met Arg Tyr Ser Gly Lys Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser
130

<210> 114
<211> 123
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 114

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Arg Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ala Val
35 40 45

Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp Thr Ser Ile Asp Tyr Thr Asn Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

```
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Ala Phe Arg Cys Ser Gly Tyr Glu Leu Arg Gly Phe Pro Thr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 115
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 115

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Leu
            20                  25                  30

Ala Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Arg Ile Thr Trp Ser Gly Ala Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ala Val
    50                  55                  60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Asp Arg Ser Pro Asn Ile Ile Asn Val Val Thr Ala Tyr Glu
            100                 105                 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 116
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 116

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ala
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Gly Phe Thr Leu Tyr
            20                  25                  30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Ala Ile Thr Ser Ser Pro Met Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Ile Asn Asn Asp Lys Thr Thr Gly Phe
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Val Leu Lys Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Pro Glu Gly Ser Phe Arg Arg Gln Tyr Ala Asp Arg Ala Met
            100                 105                 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 117
<211> 127
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 117

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Gly Ser
            20                  25                  30

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80
```

```
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Arg Ser Thr Tyr Ser Tyr Tyr Leu Ala Leu Ala Asp Arg Gly
            100                 105                 110

Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 118
<211> 125
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 118

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                   10                  15

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

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ala Val
        35                  40                  45

Ser Cys Met Ser Ala Gly Asp Ser Ile Pro Trp Tyr Thr Ala Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Thr Asp Asn Ala Arg Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala His Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Ala Arg Tyr His Gly Asp Tyr Cys Tyr Tyr Glu Gly Tyr Tyr
            100                 105                 110

Pro Phe Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 119
<211> 117
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 119

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Thr Ser Ile Ser Ser Thr Asn
20 25 30

Phe Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Ser Ser Ser Ile Thr Asn Tyr Val Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Arg Trp Ser Asp Val Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 120
<211> 121
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 120

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Thr Thr Ser Ser Ile Phe
20 25 30

Ala Met Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Ser Ile Thr Arg Ser Ser Ile Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Pro Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Ser Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

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

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 121
<211> 127
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 121

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Leu Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Asn Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gln Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Arg Asp Ser Phe Ala Tyr Tyr Ala Glu Pro Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Val Ser Ser Arg Leu Val Leu Pro Asn Thr Ser Pro
100 105 110

Asp Phe Gly Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 122
<211> 129
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 122

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Asn Asn Ala
20 25 30

Ile Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Met Asn Trp Arg Gly Gly Pro Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Phe Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Glu Asp Leu Tyr His Tyr Ser Ser Tyr His Tyr Ser Arg
100 105 110

Val Asp Leu Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 123
<211> 121
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 123

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Thr Thr Ser Ser Ile Phe
20 25 30

Ala Met Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Ser Ile Thr Arg Ser Ser Ile Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Ser Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

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

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 124
<211> 123
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 124

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Pro Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Phe Thr Arg Ser Ser Asn Ile Pro Tyr Tyr Lys Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala His Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Val Asn Leu Gly Ser Thr Trp Ser Arg Asp Gln Arg Thr Tyr Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 125
<211> 113
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Arg Phe Met Ser Met
20 25 30

Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Arg
35 40 45

Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
50 55 60

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 126
<211> 113
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 126

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Arg Phe Ile Ser Met

20 25 30

Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys His Arg Glu Leu Val Ala Arg
35 40 45

Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
50 55 60

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 127
<211> 113
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 127

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Arg Phe Ile Ser Met
20 25 30

Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Arg
35 40 45

Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
50 55 60

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe

85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 128
<211> 285
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 128

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

145 150 155 160

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
165 170 175

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
180 185 190

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
195 200 205

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
210 215 220

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
225 230 235 240

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
245 250 255

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
260 265 270

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280 285

<210> 129
<211> 245
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 129

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu

```
     50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Ser Ala Val Gly Asp Ile Thr Val Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

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

Tyr Trp Asp Phe Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
        195                 200                 205

Lys Asn Ile Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
    210                 215                 220

Ala Ala Tyr Tyr Cys Asn Thr Gln Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
225                 230                 235                 240

Val Thr Val Ser Ser
                245
```

<210> 130
<211> 255
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 130

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Ala Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Arg Ser Phe Ser His Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Ile Arg Gly Gly Gly Gly Ser Thr
180 185 190

Thr Tyr Ala Asn Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn
195 200 205

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

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Thr Ala Phe Tyr Arg Gly Pro Tyr
225 230 235 240

Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245 250 255

<210> 131
<211> 247
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 131

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly
145 150 155 160

Ile Arg Phe Met Ser Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys His
165 170 175

Arg Glu Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Val
180 185 190

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
195 200 205

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

Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly
225 230 235 240

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 132
<211> 250
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 132

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

```
Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Asn Ile Phe Ser Asn Asn Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Gly Phe Thr
            180                 185                 190

Tyr Tyr Leu Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

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

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Ala Tyr Arg Thr Tyr Asn Tyr Trp
225                 230                 235                 240

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
                245                 250
```

<210> 133
<211> 258
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 133

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Arg Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Val Leu Val Ala Asp Ile Ser Ser Ser Gly Ile Asn Thr
180 185 190

Tyr Val Ala Asp Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

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

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ala Trp Trp Tyr Ser Gln Met
225 230 235 240

Ala Arg Asp Asn Tyr Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
245 250 255

Ser Ser

<210> 134
<211> 251
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 134

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Leu Ser Ser Ser Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Ser Pro Gly Gly Leu Phe Thr

180 185 190

Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser Val Ser Thr Asp Asn
195 200 205

Ala Asn Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Leu Tyr Ser Cys Ala Lys Gly Gly Ala Pro Asn Tyr Thr Pro
225 230 235 240

Arg Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 135
<211> 259
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 135

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

```
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Arg Thr Phe Asn Ser Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala His Ile Asn Arg Ser Gly Ser Ser Thr
            180                 185                 190

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Arg Tyr Tyr Ser Ser Asp Gly
225                 230                 235                 240

Val Pro Ser Ala Ser Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
                245                 250                 255

Val Ser Ser
```

<210> 136
<211> 257
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 136

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
```

35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly
145 150 155 160

Ser Ala Phe Lys Ser Tyr Arg Met Gly Trp Phe Arg Arg Thr Pro Gly
165 170 175

Lys Glu Asp Glu Phe Val Ala Ser Ile Ser Trp Thr Tyr Gly Ser Thr
180 185 190

Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Lys
195 200 205

Ala Lys Asn Ala Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Gln Ser Asp Arg Tyr Asn
225 230 235 240

Ile Arg Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser

<210> 137
<211> 249
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 137

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Thr Ser Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Pro Pro Val Gly His Phe Ala
180 185 190

Asn Tyr Ala Pro Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Asn Thr Leu Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Ser Ala Gly Arg Thr Lys Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 138
<211> 258
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 138

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

```
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu
145                 150                 155                 160

Arg Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Asp Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Thr Arg Ser Gly Gly Gly Thr
            180                 185                 190

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

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

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Thr Arg Ser Ser Thr Ile Val Val
225                 230                 235                 240

Gly Val Gly Gly Met Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val Thr Val
                245                 250                 255

Ser Ser
```

<210> 139
<211> 276
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 139

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45
```

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser
180 185 190

Ala Val Gly Asp Ile Thr Val Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Ile
195 200 205

Gln Arg Gln Leu Val Ala Thr Ile Thr Pro Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr
210 215 220

Trp Asp Phe Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
225 230 235 240

Asn Ile Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
245 250 255

Ala Tyr Tyr Cys Asn Thr Gln Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
260 265 270

Thr Val Ser Ser

275

<210> 140
<211> 286
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 140

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Ala Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg

180 185 190

Ser Phe Ser His Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
195 200 205

Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Ile Arg Gly Gly Gly Gly Ser Thr Thr
210 215 220

Tyr Ala Asn Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala
225 230 235 240

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
245 250 255

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Thr Ala Phe Tyr Arg Gly Pro Tyr Asp
260 265 270

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280 285

<210> 141
<211> 278
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 141

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile
180 185 190

Arg Phe Met Ser Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys His Arg
195 200 205

Glu Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Val Asp
210 215 220

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
225 230 235 240

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
245 250 255

Tyr Cys Asn Thr Phe Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr
260 265 270

Gln Val Thr Val Ser Ser
275

<210> 142
<211> 281
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 142

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn
180 185 190

Ile Phe Ser Asn Asn Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
195 200 205

Gln Arg Glu Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Gly Phe Thr Tyr
210 215 220

```
Tyr Leu Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala
225                 230                 235                 240

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
                245                 250                 255

Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Ala Tyr Arg Thr Tyr Asn Tyr Trp Gly
            260                 265                 270

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        275                 280
```

<210> 143
<211> 289
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 143

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
```

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
180 185 190

Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
195 200 205

Glu Arg Val Leu Val Ala Asp Ile Ser Ser Ser Gly Ile Asn Thr Tyr
210 215 220

Val Ala Asp Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
225 230 235 240

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
245 250 255

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ala Trp Trp Tyr Ser Gln Met Ala
260 265 270

Arg Asp Asn Tyr Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
275 280 285

Ser

<210> 144
<211> 282
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 144

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145                 150                 155                 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
                165                 170                 175

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly Phe
            180                 185                 190

Thr Leu Ser Ser Ser Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
        195                 200                 205

Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Ser Pro Gly Gly Leu Phe Thr Tyr
    210                 215                 220

Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser Val Ser Thr Asp Asn Ala
225                 230                 235                 240

Asn Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
```

245 250 255

Ala Leu Tyr Ser Cys Ala Lys Gly Gly Ala Pro Asn Tyr Thr Pro Arg
260 265 270

Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280

<210> 145
<211> 290
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 145

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Arg
180 185 190

Thr Phe Asn Ser Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
195 200 205

Glu Arg Glu Ser Val Ala His Ile Asn Arg Ser Gly Ser Ser Thr Tyr
210 215 220

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
225 230 235 240

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
245 250 255

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Arg Tyr Tyr Ser Ser Asp Gly Val
260 265 270

Pro Ser Ala Ser Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
275 280 285

Ser Ser
290

<210> 146
<211> 288
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 146

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ser
180 185 190

Ala Phe Lys Ser Tyr Arg Met Gly Trp Phe Arg Arg Thr Pro Gly Lys
195 200 205

Glu Asp Glu Phe Val Ala Ser Ile Ser Trp Thr Tyr Gly Ser Thr Phe
210 215 220

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Lys Ala
225 230 235 240

Lys Asn Ala Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
245 250 255

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

Arg Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280 285

<210> 147
<211> 280
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 147

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

```
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe
            180                 185                 190

Thr Phe Ser Thr Ser Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
        195                 200                 205

Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Pro Pro Val Gly His Phe Ala Asn
    210                 215                 220

Tyr Ala Pro Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
225                 230                 235                 240

Lys Asn Thr Leu Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr
                245                 250                 255

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Ser Ala Gly Arg Thr Lys Gly Gln
            260                 265                 270

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        275                 280
```

<210> 148
<211> 289
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 148

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80
```

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Arg
180 185 190

Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Asp Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
195 200 205

Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Thr Arg Ser Gly Gly Gly Thr Tyr
210 215 220

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
225 230 235 240

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
245 250 255

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Thr Arg Ser Ser Thr Ile Val Val Gly
260 265 270

Val Gly Gly Met Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
275 280 285

Ser

<210> 149

<211> 245
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 149

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ala Val Gly Asp Ile
20 25 30

Thr Val Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Ile Gln Arg Gln Leu Val
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Pro Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Trp Asp Phe Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Gln Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val
130 135 140

Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
145 150 155 160

Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr
165 170 175

Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp
180 185 190

Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu

195 200 205

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser
210 215 220

Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
225 230 235 240

Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 150
<211> 255
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 150

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Phe Ser His Tyr
20 25 30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ser Ile Arg Gly Gly Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Asn Ser Val
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Ala Phe Tyr Arg Gly Pro Tyr Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr

130 135 140

Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser
145 150 155 160

Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu
165 170 175

Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser
180 185 190

Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
195 200 205

Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp
225 230 235 240

Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245 250 255

<210> 151
<211> 247
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 151

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Arg Phe Met Ser Met
20 25 30

Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys His Arg Glu Leu Val Ala Arg
35 40 45

Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
50 55 60

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met

65 70 75 80

Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys
130 135 140

Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg
145 150 155 160

Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly
165 170 175

Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser
180 185 190

Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys
195 200 205

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly
210 215 220

Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 152
<211> 250
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 152

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Ser Asn Asn
20 25 30

Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Ala Ala Tyr Arg Thr Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
115 120 125

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg
130 135 140

Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly
145 150 155 160

Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile
165 170 175

Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe
180 185 190

Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn
195 200 205

Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg
210 215 220

Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp
225 230 235 240

```
Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
                245                 250


<210>  153
<211>  258
<212>  PRT
<213>  Nhân tạo

<220>
<223>  Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400>  153

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15

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

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Val Leu Val
        35                  40                  45

Ala Asp Ile Ser Ser Ser Gly Ile Asn Thr Tyr Val Ala Asp Ala Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Ser Ala Trp Trp Tyr Ser Gln Met Ala Arg Asp Asn Tyr Arg
            100                 105                 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
    130                 135                 140

Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg
145                 150                 155                 160

Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys
                165                 170                 175
```

Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp
180 185 190

Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys
195 200 205

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg
225 230 235 240

Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
245 250 255

Ser Ser

<210> 154
<211> 251
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 154

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Ser
20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Ser Val Ser Thr Asp Asn Ala Asn Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Ser Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Gly Ala Pro Asn Tyr Thr Pro Arg Gly Arg Gly Thr Gln
100 105 110

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

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu
130 135 140

Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met
145 150 155 160

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala
165 170 175

Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg
180 185 190

Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile
195 200 205

Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser
210 215 220

Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr
225 230 235 240

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 155
<211> 259
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 155

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

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

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val
35 40 45

Ala His Ile Asn Arg Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Arg Tyr Tyr Ser Ser Asp Gly Val Pro Ser Ala Ser Phe
100 105 110

Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly
145 150 155 160

Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr
180 185 190

Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala
195 200 205

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
210 215 220

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu
225 230 235 240

Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser

<210> 156
<211> 257
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 156

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

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

Arg Met Gly Trp Phe Arg Arg Thr Pro Gly Lys Glu Asp Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Trp Thr Tyr Gly Ser Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Ala Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Ala Gln Ser Asp Arg Tyr Asn Ile Arg Ser Tyr Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr
145 150 155 160

Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu
165 170 175

Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser

180 185 190

Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn
195 200 205

Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu
225 230 235 240

Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser

<210> 157
<211> 249
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 157

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Ser
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Pro Pro Val Gly His Phe Ala Asn Tyr Ala Pro Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Ala Gly Arg Thr Lys Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp
145 150 155 160

Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser
165 170 175

Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr
180 185 190

Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser
195 200 205

Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala
210 215 220

Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 158
<211> 258
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 158

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Arg Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Asp Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

```
        35                  40                  45

Ala Ala Ile Thr Arg Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Thr Arg Ser Ser Thr Ile Val Val Gly Val Gly Gly Met Glu
            100                 105                 110

Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
    130                 135                 140

Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg
145                 150                 155                 160

Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys
                165                 170                 175

Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp
            180                 185                 190

Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys
        195                 200                 205

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
    210                 215                 220

Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg
225                 230                 235                 240

Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
                245                 250                 255

Ser Ser
```

<210> 159
<211> 276
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 159

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ala Val Gly Asp Ile
20 25 30

Thr Val Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Ile Gln Arg Gln Leu Val
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Pro Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Trp Asp Phe Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Gln Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
145 150 155 160

Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser
165 170 175

Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln
180 185 190

```
Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys
        195                 200                 205

Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn
    210                 215                 220

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

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg
                245                 250                 255

Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
            260                 265                 270

Thr Val Ser Ser
        275
```

<210> 160
<211> 286
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 160

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Asp
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Phe Ser His Tyr
            20                  25                  30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Ser Ile Arg Gly Gly Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Asn Ser Val
    50                  55                  60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
Ala Ala Thr Ala Phe Tyr Arg Gly Pro Tyr Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
145                 150                 155                 160

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly
                165                 170                 175

Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser
            180                 185                 190

Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe
        195                 200                 205

Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu
    210                 215                 220

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
225                 230                 235                 240

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                245                 250                 255

Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
            260                 265                 270

Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        275                 280                 285
```

<210> 161
<211> 278
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 161

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Arg Phe Met Ser Met
            20                  25                  30

Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys His Arg Glu Leu Val Ala Arg
        35                  40                  45

Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
    50                  55                  60

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65                  70                  75                  80

Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
            100                 105                 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
145                 150                 155                 160

Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu
                165                 170                 175

Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln
            180                 185                 190

Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly
        195                 200                 205

Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys
    210                 215                 220

Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro
```

225 230 235 240

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser
245 250 255

Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
260 265 270

Gln Val Thr Val Ser Ser
275

<210> 162
<211> 281
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 162

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Ser Asn Asn
20 25 30

Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Ala Ala Tyr Arg Thr Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

```
    130                 135                 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
145                 150                 155                 160

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu
                165                 170                 175

Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp
            180                 185                 190

Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser
        195                 200                 205

Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr
    210                 215                 220

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

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

Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly
            260                 265                 270

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        275                 280
```

<210> 163
<211> 289
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 163

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                   10                  15

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

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Val Leu Val
```

35 40 45

Ala Asp Ile Ser Ser Ser Gly Ile Asn Thr Tyr Val Ala Asp Ala Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ala Trp Trp Tyr Ser Gln Met Ala Arg Asp Asn Tyr Arg
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
165 170 175

Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr
180 185 190

Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu
195 200 205

Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser
210 215 220

Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn
225 230 235 240

Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
245 250 255

Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu
260 265 270

Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
275 280 285

Ser

<210> 164
<211> 282
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 164

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Ser
20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Ser Val Ser Thr Asp Asn Ala Asn Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Ser Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Gly Ala Pro Asn Tyr Thr Pro Arg Gly Arg Gly Thr Gln
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
145 150 155 160

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg
165 170 175

Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly
180 185 190

Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe
210 215 220

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

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

Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp
260 265 270

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280

<210> 165
<211> 290
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 165

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

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

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val
35 40 45

Ala His Ile Asn Arg Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

```
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Gly Arg Tyr Tyr Ser Ser Asp Gly Val Pro Ser Ala Ser Phe
            100                 105                 110

Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145                 150                 155                 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
                165                 170                 175

Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg
            180                 185                 190

Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys
        195                 200                 205

Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp
    210                 215                 220

Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys
225                 230                 235                 240

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
                245                 250                 255

Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg
            260                 265                 270

Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
        275                 280                 285

Ser Ser
```

290

<210> 166
<211> 288
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 166

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

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

Arg Met Gly Trp Phe Arg Arg Thr Pro Gly Lys Glu Asp Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Trp Thr Tyr Gly Ser Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Ala Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Ala Gln Ser Asp Arg Tyr Asn Ile Arg Ser Tyr Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
165 170 175

Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe

180 185 190

Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg
195 200 205

Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val
210 215 220

Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr
225 230 235 240

Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
245 250 255

Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala
260 265 270

Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280 285

<210> 167
<211> 280
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 167

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Ser
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Pro Pro Val Gly His Phe Ala Asn Tyr Ala Pro Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Asp Ser Ala Gly Arg Thr Lys Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
145 150 155 160

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser
165 170 175

Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe
180 185 190

Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys
195 200 205

Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

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

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

Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln
260 265 270

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280

<210> 168
<211> 289
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit nhân tạo bao gồm các trình tự của lạc đà không bướu

<400> 168

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Arg Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Asp Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Arg Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Arg Ser Ser Thr Ile Val Val Gly Val Gly Gly Met Glu
100 105 110

Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
165 170 175

Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr
180 185 190

Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu
195 200 205

Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser
210 215 220

Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn
225 230 235 240

Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
245 250 255

Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu
260 265 270

Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
275 280 285

Ser

<210> 169
<211> 35
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Cầu liên kết tổng hợp

<400> 169

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 Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser
35

<210> 170
<211> 9
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Cầu liên kết tổng hợp

<400> 170

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 171

<211> 40
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Cầu liên kết tổng hợp

<400> 171

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 Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
35 40

<210> 172
<211> 9
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Cầu liên kết tổng hợp

<400> 172

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 173
<211> 25
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Cầu liên kết tổng hợp

<400> 173

Gly Gly Gly Gly Cys 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> 174
<211> 27
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Cầu liên kết tổng hợp

<400> 174

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

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

<210> 175
<211> 35
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Cầu liên kết tổng hợp

<400> 175

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

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

Gly Gly Ser
35

<210> 176
<211> 35
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Cầu liên kết tổng hợp

<400> 176

Gly Gly Gly Gly Cys 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 Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser
35

<210> 177

<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 177

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 178
<211> 585
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 178

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 179
<211> 109
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 179

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105

<210> 180

<211> 257
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 180

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
130 135 140

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
145 150 155 160

Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys
165 170 175

Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
180 185 190

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala

195 200 205

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
210 215 220

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu
225 230 235 240

Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser

<210> 181
<211> 288
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 181

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

```
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    130                 135                 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
                165                 170                 175

Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
            180                 185                 190

Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu
        195                 200                 205

Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr
    210                 215                 220

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys
225                 230                 235                 240

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
                245                 250                 255

Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro
            260                 265                 270

Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        275                 280                 285
```

<210> 182
<211> 255
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 182

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Val Gly Asp
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr
```

20 25 30

Leu Met Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe
35 40 45

Ala Ala Gly Ile Trp Ser Ser Gly Asp Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Ser Tyr Asp Gly Asn Tyr Tyr Ile Pro Gly Phe Tyr Lys Asp
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Val Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
145 150 155 160

Phe Ser Thr Tyr Leu Met Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
165 170 175

Glu Arg Glu Phe Ala Ala Gly Ile Trp Ser Ser Gly Asp Thr Ala Tyr
180 185 190

Ala Asp Ser Val Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
195 200 205

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

Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Ser Tyr Asp Gly Asn Tyr Tyr Ile Pro Gly
225 230 235 240

Phe Tyr Lys Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245 250 255

<210> 183
<211> 267
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 183

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
100 105 110

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
145 150 155 160

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg
165 170 175

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn
180 185 190

Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
195 200 205

Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
210 215 220

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly
225 230 235 240

Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala
245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
260 265

<210> 184
<211> 298
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 184

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
100 105 110

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
165 170 175

Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
180 185 190

Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln
195 200 205

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

Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
225 230 235 240

Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
245 250 255

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg
260 265 270

Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp
275 280 285

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
290 295

<210> 185
<211> 267
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 185

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Asp Asp Tyr
            20                  25                  30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
        35                  40                  45

Ser Ser Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
            100                 105                 110

Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
    130                 135                 140

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
145                 150                 155                 160

Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg
                165                 170                 175

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn
            180                 185                 190

Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
        195                 200                 205

Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
    210                 215                 220

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly
```

225 230 235 240

Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala
245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
260 265

<210> 186
<211> 387
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 186

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly

145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
180 185 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
260 265 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp
275 280 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 187
<211> 387
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 187

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
100 105 110

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
145 150 155 160

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
165 170 175

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
180 185 190

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
195 200 205

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
210 215 220

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
225 230 235 240

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
260 265 270

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
275 280 285

Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
290 295 300

Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr
305 310 315 320

Asp Ala Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
325 330 335

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr
340 345 350

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu
355 360 365

Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 188

<211> 387
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 188

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
100 105 110

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Val Glu
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
145 150 155 160

Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg
165 170 175

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly
180 185 190

Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser

195 200 205

Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg
210 215 220

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly
225 230 235 240

Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
260 265 270

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
275 280 285

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
290 295 300

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
305 310 315 320

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
325 330 335

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
340 345 350

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
355 360 365

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 189
<211> 375
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 189

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
145 150 155 160

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
225 230 235 240

Val Ser Ser Ala Ala Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
245 250 255

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
260 265 270

Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
275 280 285

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr
290 295 300

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn
305 310 315 320

Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
325 330 335

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe
340 345 350

Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly
355 360 365

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375

<210> 190
<211> 384
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 190

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

```
Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Ala Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Val Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ile Thr
            180                 185                 190

Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

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

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr
225                 230                 235                 240

Asp Cys Met Gly Leu Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
                245                 250                 255

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
```

260 265 270

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg
275 280 285

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
290 295 300

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile
305 310 315 320

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
325 330 335

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met
340 345 350

Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly
355 360 365

Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

<210> 191
<211> 384
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 191

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
180 185 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
260 265 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Leu Asp
275 280 285

Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Val Pro Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Tyr Val Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Met Gly
355 360 365

Leu Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

<210> 192
<211> 519
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 192

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

```
Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Ala Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Val Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ile Thr
            180                 185                 190

Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

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

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr
225                 230                 235                 240

Asp Cys Met Gly Leu Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
                245                 250                 255

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
            260                 265                 270

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg
        275                 280                 285

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
    290                 295                 300

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile
305                 310                 315                 320

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
                325                 330                 335

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met
```

340 345 350

Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly
355 360 365

Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
385 390 395 400

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
405 410 415

Ala Ser Gly Phe Ala Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln
420 425 430

Val Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp
435 440 445

Gly Ile Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
450 455 460

Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
465 470 475 480

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr
485 490 495

Ile Asp Tyr Asp Cys Met Gly Leu Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
500 505 510

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
515

<210> 193
<211> 525
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 193

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

```
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr
            180                 185                 190

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn
        195                 200                 205

Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe
225                 230                 235                 240
```

```
Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly
                245                 250                 255

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
            260                 265                 270

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
        275                 280                 285

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
    290                 295                 300

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
305                 310                 315                 320

Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
                325                 330                 335

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr
            340                 345                 350

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
        355                 360                 365

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
    370                 375                 380

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
385                 390                 395                 400

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
                405                 410                 415

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
            420                 425                 430

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
        435                 440                 445

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
    450                 455                 460

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
```

465 470 475 480

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
485 490 495

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
500 505 510

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
515 520 525

<210> 194
<211> 525
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 194

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly

```
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
            180                 185                 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
            260                 265                 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp
        275                 280                 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    290                 295                 300

Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305                 310                 315                 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr
                325                 330                 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp
        355                 360                 365
```

```
Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
    370                 375                 380

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
385                 390                 395                 400

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu
                405                 410                 415

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp
            420                 425                 430

Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg
        435                 440                 445

Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
    450                 455                 460

Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
465                 470                 475                 480

Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro
                485                 490                 495

Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr
            500                 505                 510

Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        515                 520                 525
```

<210> 195
<211> 525
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 195

```
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

```
Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr
            180                 185                 190

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn
        195                 200                 205

Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe
225                 230                 235                 240

Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly
                245                 250                 255

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
```

260 265 270

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
275 280 285

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
290 295 300

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
305 310 315 320

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
325 330 335

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
340 345 350

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
355 360 365

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
385 390 395 400

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu
405 410 415

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp
420 425 430

Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg
435 440 445

Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
450 455 460

Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
465 470 475 480

Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro
485 490 495

Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr
500 505 510

Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
515 520 525

<210> 196
<211> 515
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 196

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn
195 200 205

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

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

Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
245 250 255

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
260 265 270

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
275 280 285

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe
290 295 300

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

Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
325 330 335

Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser
340 345 350

Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val
355 360 365

Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly
370 375 380

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

385 390 395 400

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
405 410 415

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
420 425 430

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
435 440 445

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
450 455 460

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
465 470 475 480

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
485 490 495

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ser
515

<210> 197
<211> 515
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 197

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu

```
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
            180                 185                 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
            260                 265                 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp
        275                 280                 285
```

```
Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu
    290                 295                 300

Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305                 310                 315                 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr
                325                 330                 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350

Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu
        355                 360                 365

Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
    370                 375                 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
385                 390                 395                 400

Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
                405                 410                 415

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala
            420                 425                 430

Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser
        435                 440                 445

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp
    450                 455                 460

Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
465                 470                 475                 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys
                485                 490                 495

Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
            500                 505                 510

Val Ser Ser
```

515

<210> 198
<211> 515
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 198

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr

180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn
195 200 205

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

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

Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
245 250 255

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
260 265 270

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser
275 280 285

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val
290 295 300

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly
305 310 315 320

Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
325 330 335

Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
340 345 350

Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser
355 360 365

Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
385 390 395 400

Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
405 410 415

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala
420 425 430

Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp
450 455 460

Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
465 470 475 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys
485 490 495

Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ser
515

<210> 199
<211> 382
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 199

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
180 185 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
260 265 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp
275 280 285

Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp

305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu
355 360 365

Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

<210> 200
<211> 387
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 200

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

```
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
            180                 185                 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
            260                 265                 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Asp
        275                 280                 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    290                 295                 300

Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305                 310                 315                 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
                325                 330                 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350
```

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 201
<211> 387
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 201

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

```
Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
            180                 185                 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
            260                 265                 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Thr Leu Asp
        275                 280                 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    290                 295                 300

Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305                 310                 315                 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
                325                 330                 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
        355                 360                 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
```

370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 202
<211> 387
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 202

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

```
                165                 170                 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
            180                 185                 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
            260                 265                 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Asp
        275                 280                 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    290                 295                 300

Gly Val Ser Ala Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305                 310                 315                 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
                325                 330                 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
        355                 360                 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
    370                 375                 380

Val Ser Ser
385
```

<210> 203
<211> 387
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 203

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
180 185 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
260 265 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Asp
275 280 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Ala Ile Arg Glu Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 204
<211> 387
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 204

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
180 185 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp

```
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
            260                 265                 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Asp
        275                 280                 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    290                 295                 300

Gly Val Ser Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305                 310                 315                 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
                325                 330                 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
        355                 360                 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
    370                 375                 380

Val Ser Ser
385
```

<210> 205
<211> 387
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 205

```
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
```

```
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
            180                 185                 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240
```

```
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
            260                 265                 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Thr Leu Asp
        275                 280                 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    290                 295                 300

Gly Val Ser Ala Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305                 310                 315                 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
                325                 330                 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
        355                 360                 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
    370                 375                 380

Val Ser Ser
385
```

<210> 206
<211> 387
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 206

```
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

```
Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
            180                 185                 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
```

260 265 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Thr Leu Asp
275 280 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Ala Ile Arg Glu Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 207
<211> 387
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 207

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu

```
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
            180                 185                 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
            260                 265                 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Thr Leu Asp
        275                 280                 285
```

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 208
<211> 525
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 208

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

```
Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
            180                 185                 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
            260                 265                 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp
        275                 280                 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    290                 295                 300

Gly Val Ser Ala Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
```

```
305                 310                 315                 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
                325                 330                 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp
        355                 360                 365

Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
    370                 375                 380

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
385                 390                 395                 400

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
                405                 410                 415

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp
            420                 425                 430

Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ala Ile Arg
        435                 440                 445

Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
    450                 455                 460

Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
465                 470                 475                 480

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

Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr
            500                 505                 510

Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        515                 520                 525
```

<210> 209
<211> 525
<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 209

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ala Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn
195 200 205

```
Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe
225                 230                 235                 240

Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly
                245                 250                 255

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
            260                 265                 270

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
        275                 280                 285

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
    290                 295                 300

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
305                 310                 315                 320

Ser Ala Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
                325                 330                 335

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
            340                 345                 350

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
        355                 360                 365

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
    370                 375                 380

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
385                 390                 395                 400

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
                405                 410                 415

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
            420                 425                 430

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
```

435 440 445

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
450 455 460

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
465 470 475 480

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
485 490 495

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
500 505 510

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
515 520 525

<210> 210
<211> 515
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 210

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr

100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
180 185 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
260 265 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp
275 280 285

Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu
355 360 365

Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
385 390 395 400

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
405 410 415

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro
420 425 430

Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Gly Gly Ser
435 440 445

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp
450 455 460

Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
465 470 475 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys
485 490 495

Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ser
515

<210> 211
<211> 515
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 211

```
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
            100                 105                 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Gly Gly Ser Thr
            180                 185                 190

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn
        195                 200                 205

Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu
```

225 230 235 240

Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
245 250 255

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
260 265 270

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
275 280 285

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe
290 295 300

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys
305 310 315 320

Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
325 330 335

Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser
340 345 350

Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val
355 360 365

Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly
370 375 380

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
385 390 395 400

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
405 410 415

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
420 425 430

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
435 440 445

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
450 455 460

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
465 470 475 480

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
485 490 495

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ser
515

<210> 212
<211> 384
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 212

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

```
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
                165                 170                 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
            180                 185                 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
            260                 265                 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Leu Asp
        275                 280                 285

Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    290                 295                 300

Gly Val Ser Cys Ile Ser Ser Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp
305                 310                 315                 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
                325                 330                 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350

Tyr Cys Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Ser Gly
```

355 360 365

Leu Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

<210> 213
<211> 525
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 213

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

```
                165                 170                 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
            180                 185                 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
        195                 200                 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                245                 250                 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
            260                 265                 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp
        275                 280                 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    290                 295                 300

Gly Val Ser Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305                 310                 315                 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
                325                 330                 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp
        355                 360                 365

Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
    370                 375                 380

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
385                 390                 395                 400
```

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
405 410 415

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp
420 425 430

Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ala Ile Arg
435 440 445

Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
450 455 460

Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
465 470 475 480

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

Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr
500 505 510

Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
515 520 525

<210> 214
<211> 124
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 214

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 215
<211> 126
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 215

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Leu Asp Tyr Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Val Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Met Gly Leu Gly
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 216
<211> 129
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 216

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Arg Asp Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
100 105 110

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 217
<211> 129
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 217

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
100 105 110

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 218
<211> 124
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 218

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 219
<211> 126
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 219

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Leu Asp Tyr Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Met Gly Leu Gly
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 220
<211> 124
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 220

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Arg Cys Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 221
<211> 126
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 221

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Leu Asp Tyr Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

```
Ser Cys Ile Ser Ser Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Ser Gly Leu Gly
            100                 105                 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 222
<211> 129
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 222

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Thr Leu Asp Asp Tyr
            20                  25                  30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
            100                 105                 110
```

Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 223
<211> 129
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 223

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
100 105 110

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 224
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 224

Asp Tyr Ala Leu Gly
1 5

<210> 225
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 225

Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 226
<211> 15
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 226

Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala
1 5 10 15

<210> 227
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 227

Tyr Tyr Ala Ile Gly
1 5

<210> 228
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 228

Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 229
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 229

Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Met Gly Leu Gly Tyr Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 230
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 230

Asp Tyr Ala Ile Gly
1 5

<210> 231
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 231

Cys Ile Arg Asp Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 232
<211> 20
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 232

Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr
1 5 10 15

Glu Tyr Asp Ala
20

<210> 233
<211> 5

<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 233

Asp Tyr Ala Ile Gly
1 5

<210> 234
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 234

Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 235
<211> 20
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 235

Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr
1 5 10 15

Glu Tyr Asp Ala
20

<210> 236
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 236

Asp Tyr Ala Leu Gly
1 5

<210> 237
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 237

Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 238
<211> 15
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 238

Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala
1 5 10 15

<210> 239
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 239

Tyr Tyr Ala Ile Gly
1 5

<210> 240
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 240

Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 241
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 241

Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Met Gly Leu Gly Tyr Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 242
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 242

Asp Tyr Ala Leu Gly
1 5

<210> 243
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 243

Cys Ile Arg Cys Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 244
<211> 15
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 244

Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala
1 5 10 15

<210> 245
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 245

Tyr Tyr Ala Ile Gly
1 5

<210> 246
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 246

Cys Ile Ser Ser Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 247
<211> 17
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 247

Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Ser Gly Leu Gly Tyr Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 248
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 248

Asp Tyr Ala Ile Gly
1 5

<210> 249
<211> 17
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 249

Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 250
<211> 20
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 250

Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Ile Tyr
1 5 10 15

Glu Tyr Asp Ala
20

<210> 251
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 251

Asp Tyr Ala Ile Gly
1 5

<210> 252
<211> 17
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 252

Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 253
<211> 20
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 253

Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr
1 5 10 15

Glu Tyr Asp Ala
20

<210> 254
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự đột biến của lạc đà không bướu

<400> 254

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 255
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 255

Ser Phe Gly Met Ser
1 5

<210> 256
<211> 17
<212> PRT

<213> Lạc đà không bướu

<400> 256

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

Gly

<210> 257
<211> 6
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 257

Gly Gly Ser Leu Ser Arg
1 5

<210> 258
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 258

Leu Asn Leu Met Gly
1 5

<210> 259
<211> 16
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 259

Thr Ile Thr Val Gly Asp Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 260
<211> 8
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 260

Arg Arg Thr Trp His Ser Glu Leu
1 5

<210> 261
<211> 5

<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 261

Ile Asn Leu Leu Gly
1 5

<210> 262
<211> 16
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 262

Thr Ile Thr Val Gly Asp Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 263
<211> 8
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 263

Arg Arg Thr Trp His Ser Glu Leu
1 5

<210> 264
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 264

Ser Phe Gly Met Ser
1 5

<210> 265
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 265

Ser Ile Asn Gly Arg Gly Asp Asp Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 266

<211> 7
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 266

Gly Arg Ser Val Ser Arg Ser
1 5

<210> 267
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 267

Ser Phe Gly Met Ser
1 5

<210> 268
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 268

Ala Ile Ser Ala Asp Ser Ser Asp Lys Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 269
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 269

Gly Arg Gly Ser Pro
1 5

<210> 270
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 270

Ser Phe Gly Met Ser
1 5

<210> 271
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 271

Ala Ile Ser Ala Asp Ser Ser Asp Lys Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 272
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 272

Gly Arg Gly Ser Pro
1 5

<210> 273
<211> 5
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 273

Asn Tyr Trp Met Tyr
1 5

<210> 274
<211> 17
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 274

Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Tyr Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

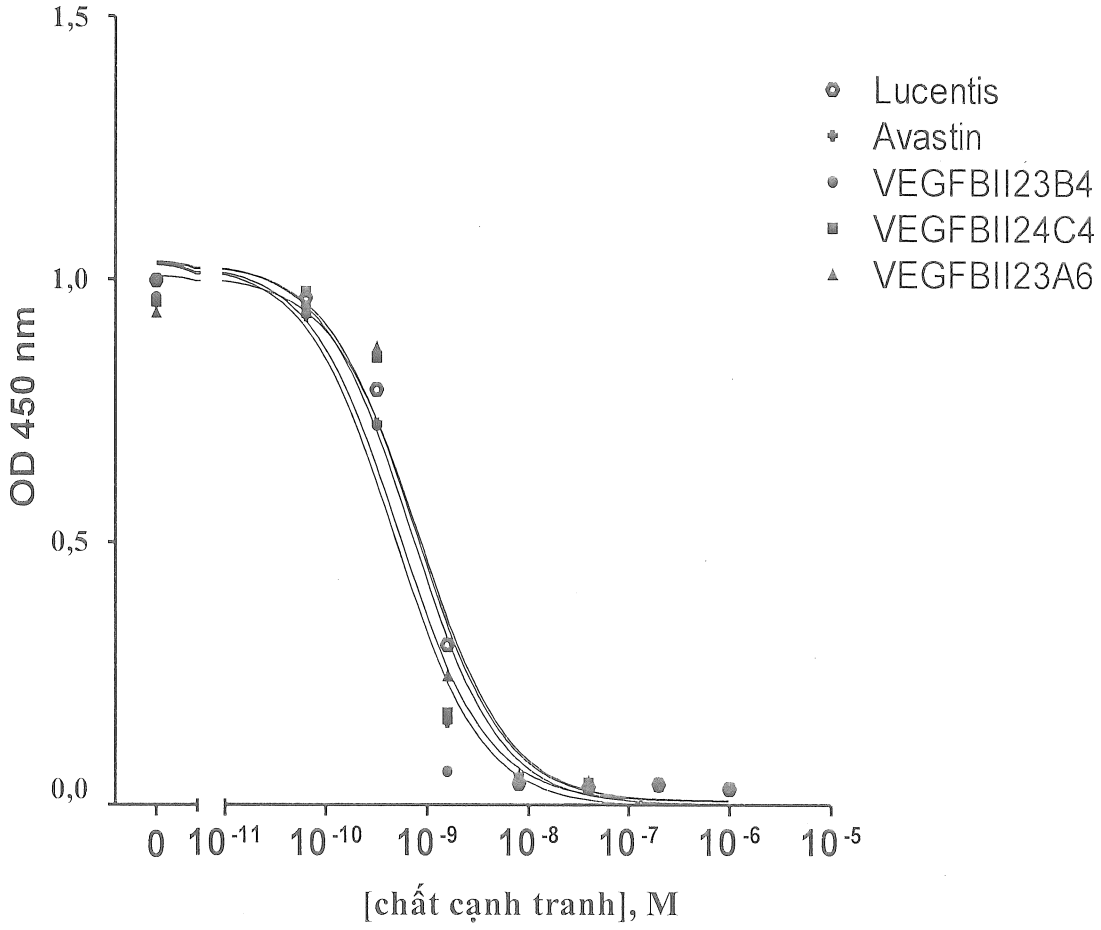
<210> 275
<211> 13
<212> PRT
<213> Lạc đà không bướu

<400> 275

```
Asp Arg Glu Ala Gln Val Asp Thr Leu Asp Phe Asp Tyr
1               5                   10
```

1 / 125

Fig.1


1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450 nm
0
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
10-5
[chất cạnh tranh], M
Lucentis
Avastin
VEGFBII23B4
VEGFBII24C4
VEGFBII23A6

2 / 125

Fig.2

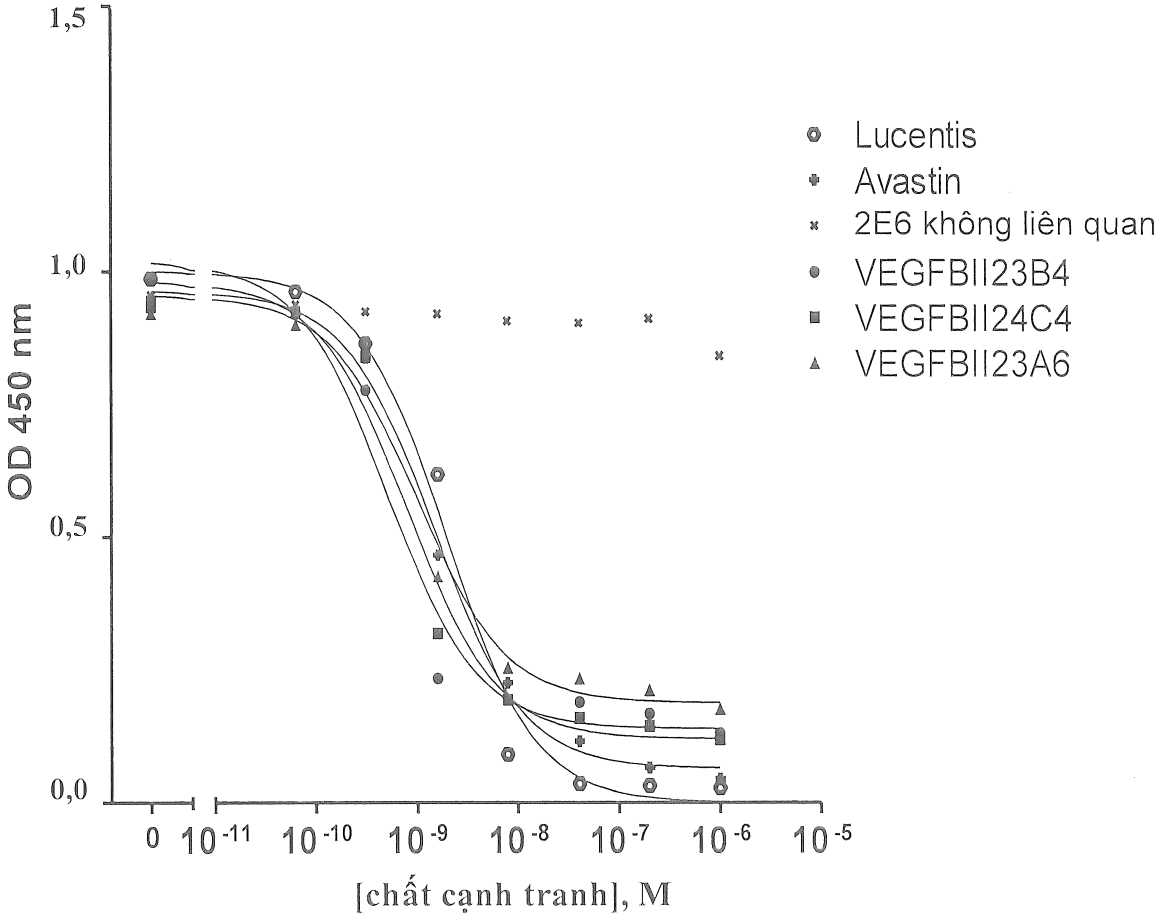

1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450 nm
0
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
10-5
[chất cạnh tranh], M
Lucentis
Avastin
2E6 không liên quan
VEGFBII23B4
VEGFBII24C4
VEGFBII23A6

Fig.3

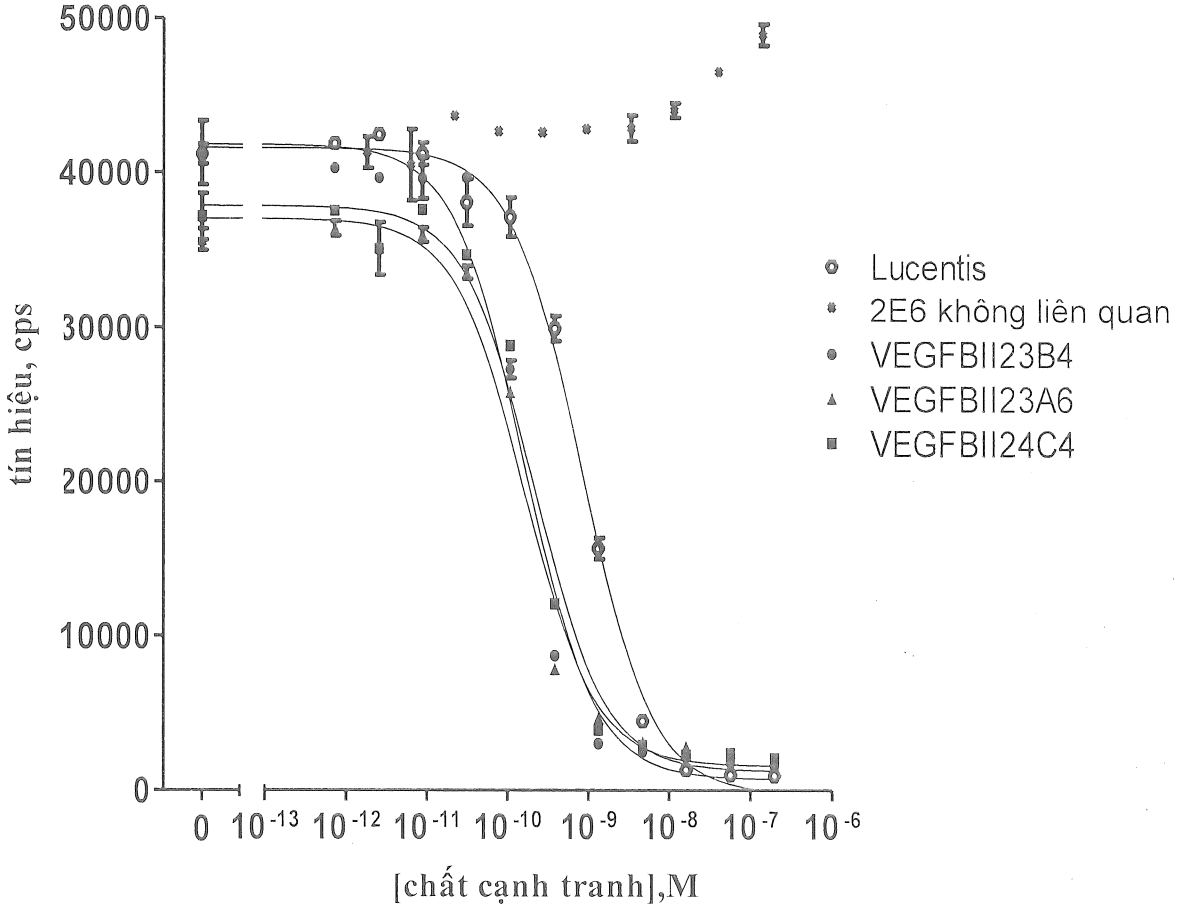
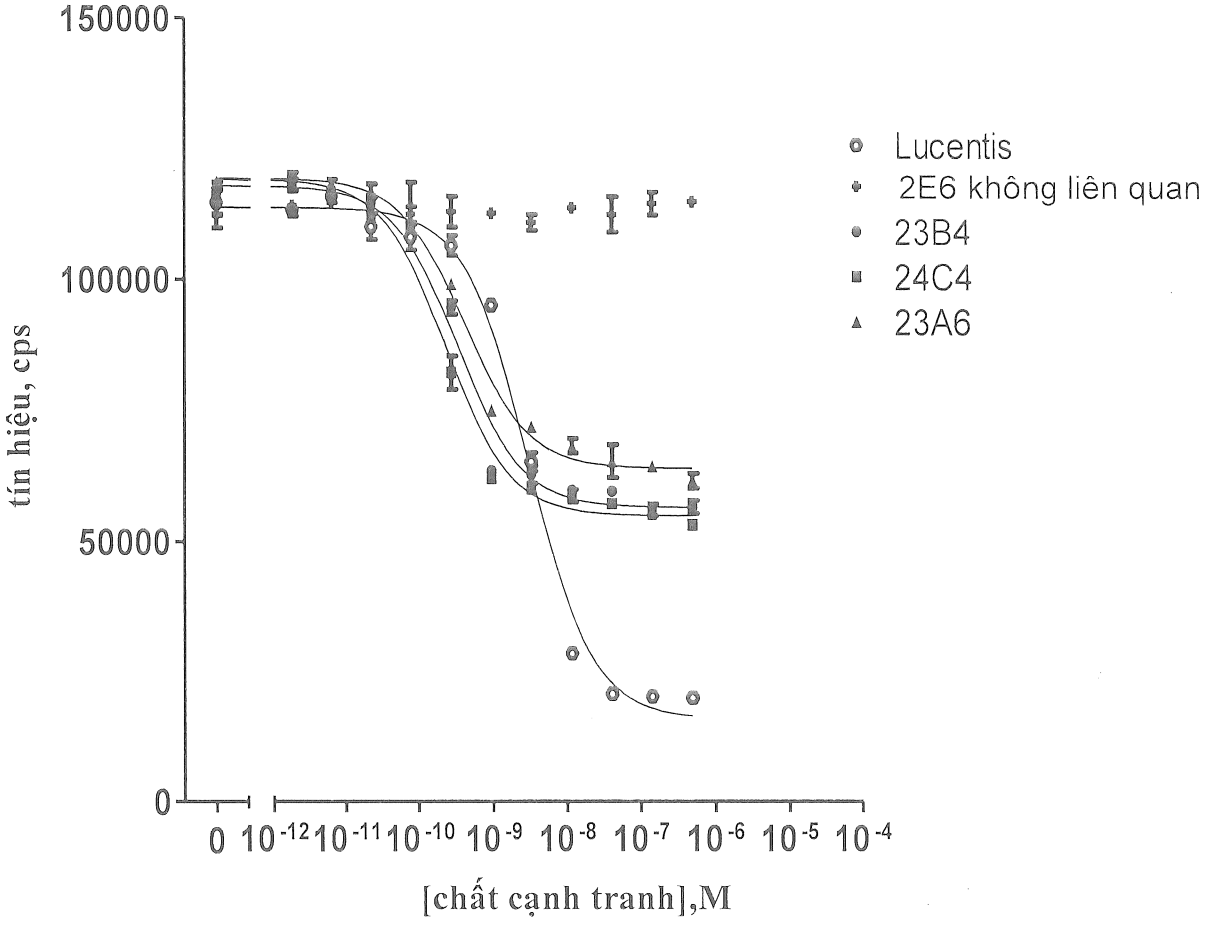

50000
40000
30000
20000
10000
0
tín hiệu, cps
0 10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6
[chất cạnh tranh],M
Lucentis
2E6 không liên quan
VEGFBII23B4
VEGFBII23A6
VEGFBII24C4

Fig.4


150000
100000
50000
0
tín hiệu, cps
0 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5 10-4
[chất cạnh tranh],M
Lucentis
2E6 không liên quan
23B4
24C4
23A6

5 / 125

Fig.5

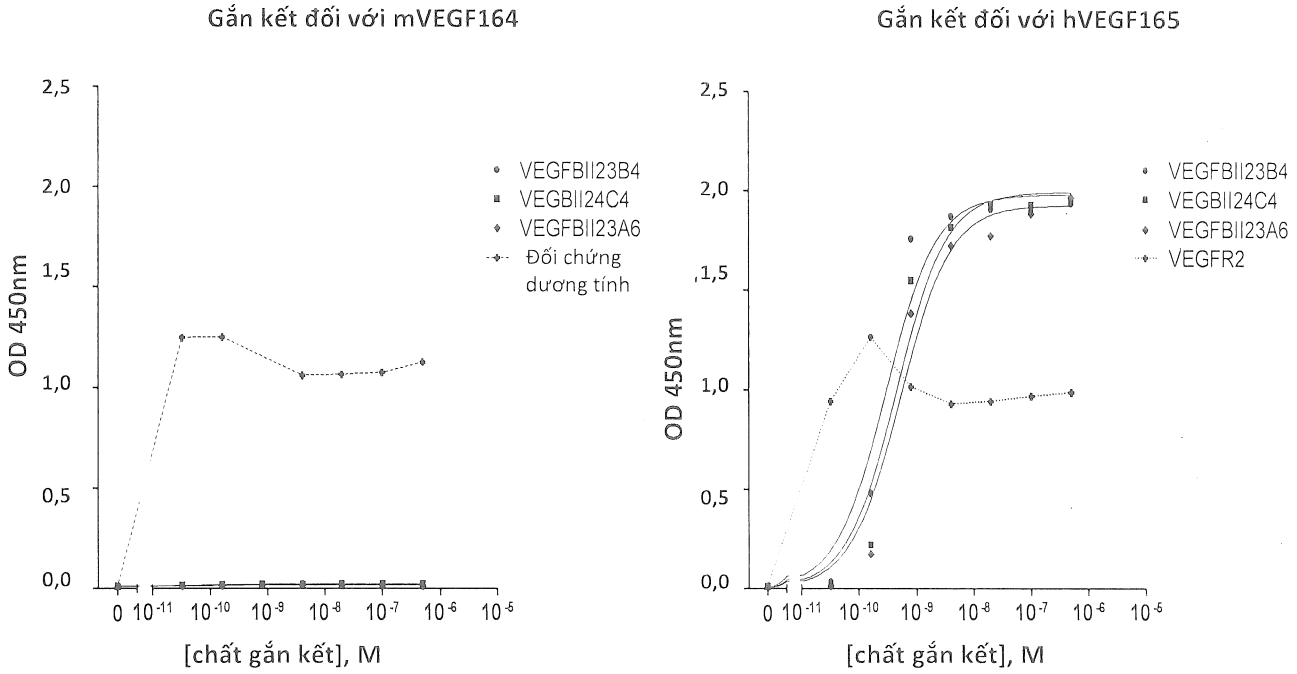

Gắn kết đối với mVEGF164
OD 450nm
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất gắn kết], M
VEGFBII23B4
VEGBII24C4
VEGFBII23A6
Đối chứng dương tính
Gắn kết đối với hVEGF165
OD 450nm
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất gắn kết], M
VEGFBII23B4
VEGBII24C4
VEGFBII23A6
VEGFR2

Fig.6

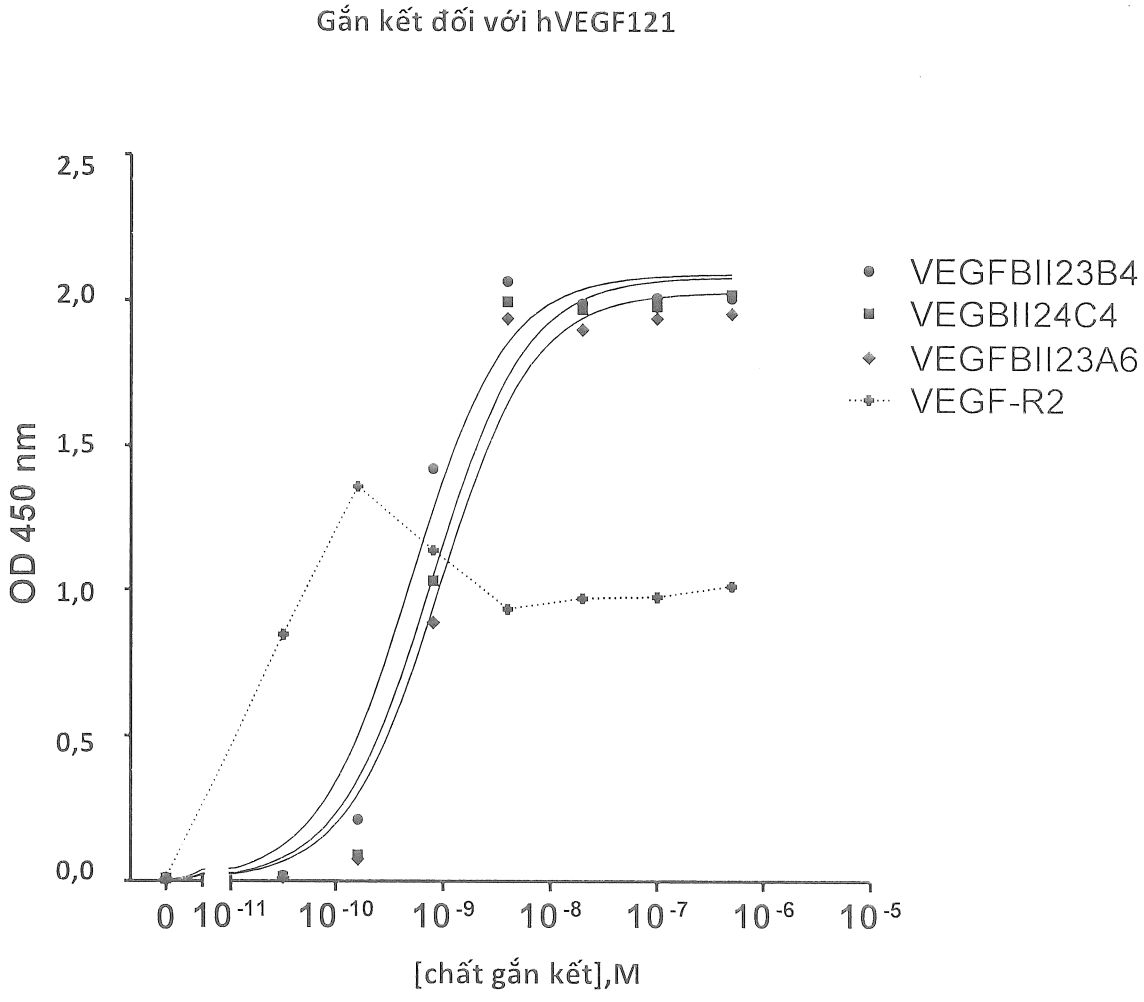

Gắn kết đối với hVEGF121
OD 450 nm
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
10-5
[chất gắn kết],M
VEGFBII23B4
VEGBII24C4
VEGFBII23A6
VEGF-R2

Fig.7

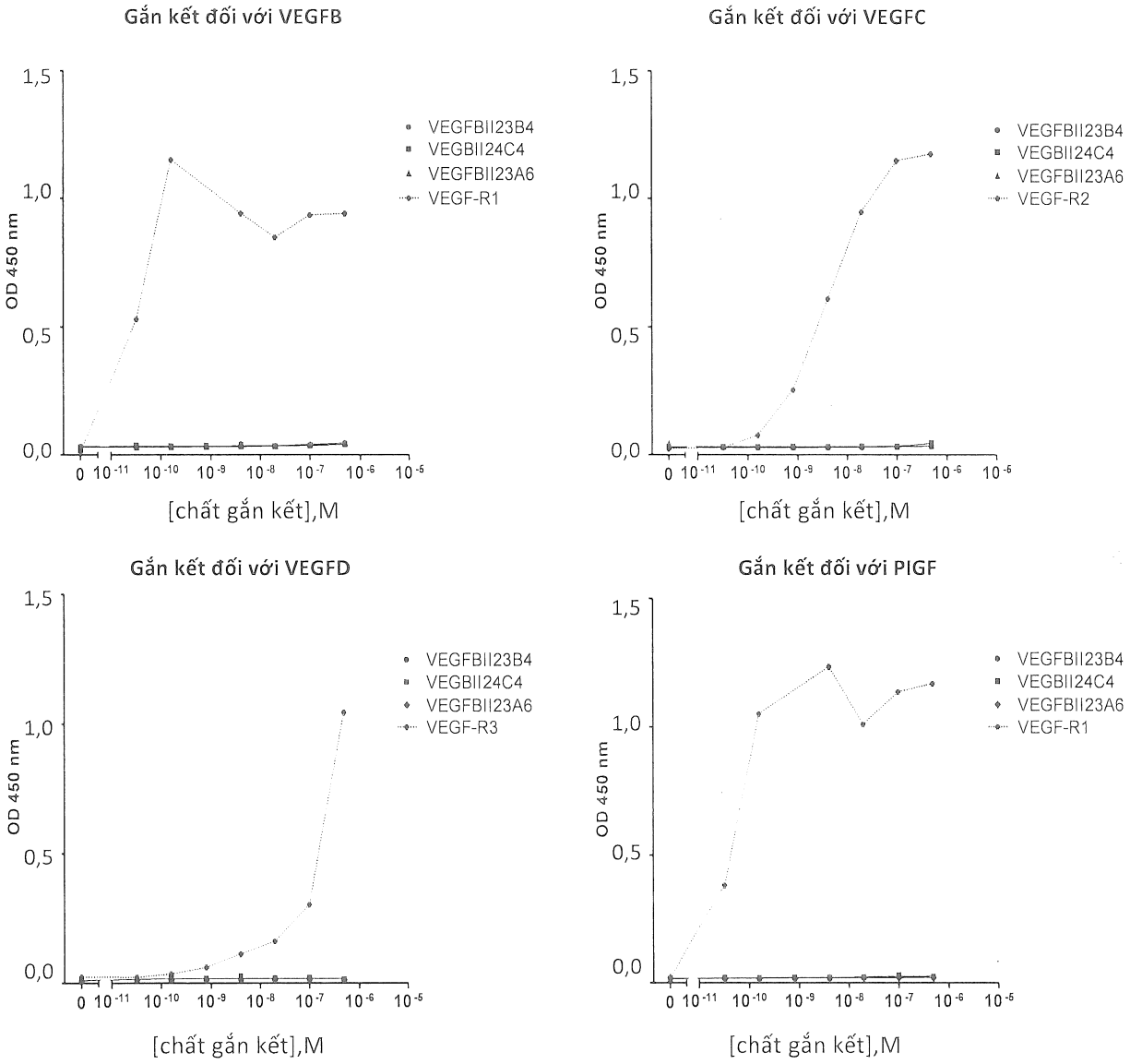
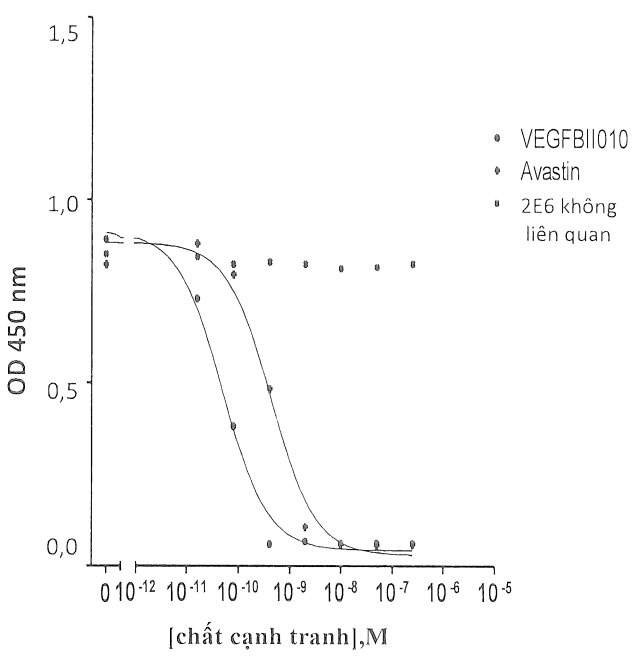

Gắn kết đối với VEGFB
OD 450 nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất gắn kết],M
VEGFBII23B4
VEGBII24C4
VEGFBII23A6
VEGF-R1
Gắn kết đối với VEGFC
OD 450 nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất gắn kết],M
VEGFBII23B4
VEGBII24C4
VEGFBII23A6
VEGF-R2
Gắn kết đối với VEGFD
OD 450 nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất gắn kết],M
VEGFBII23B4
VEGBII24C4
VEGFBII23A6
VEGF-R3
Gắn kết đối với PIGF
OD 450 nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất gắn kết],M
VEGFBII23B4
VEGBII24C4
VEGFBII23A6
VEGF-R1

Fig.8


1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450 nm
0 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất cạnh tranh],M
VEGFBII010
Avastin
2E6 không liên quan

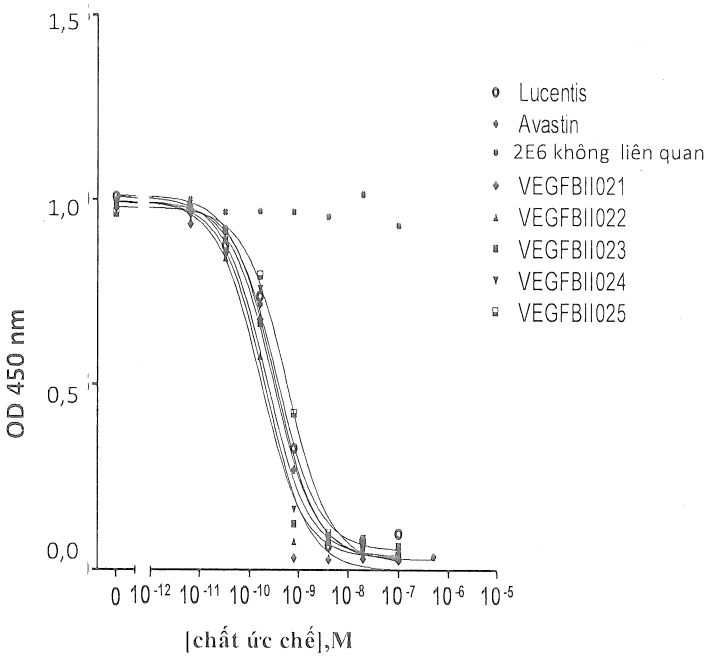

1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450 nm
0 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất ức chế],M
Lucentis
Avastin
2E6 không liên quan
VEGFBII021
VEGFBII022
VEGFBII023
VEGFBII024
VEGFBII025

Fig.9

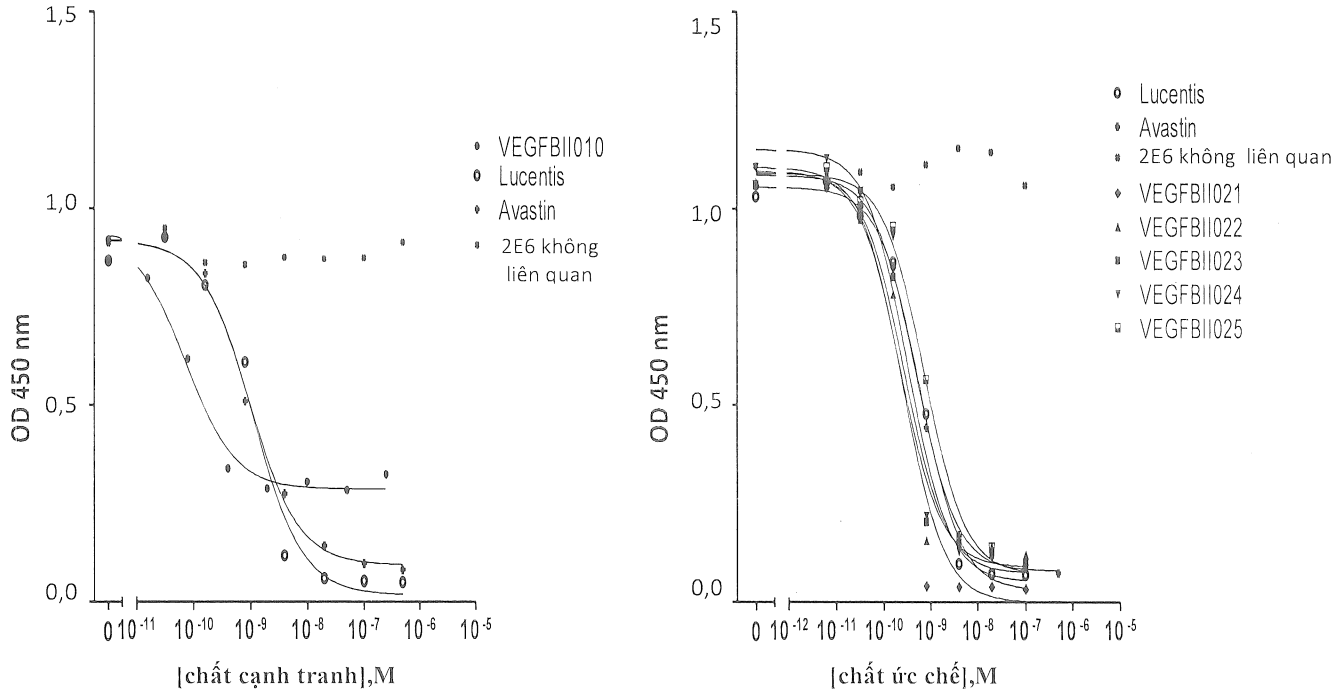

1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450 nm
0 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất cạnh tranh],M
VEGFBII010
Lucentis
Avastin
2E6 không liên quan
0 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất ức chế],M
Lucentis
Avastin
2E6 không liên quan
VEGFBII021
VEGFBII022
VEGFBII023
VEGFBII024
VEGFBII025

Fig.10

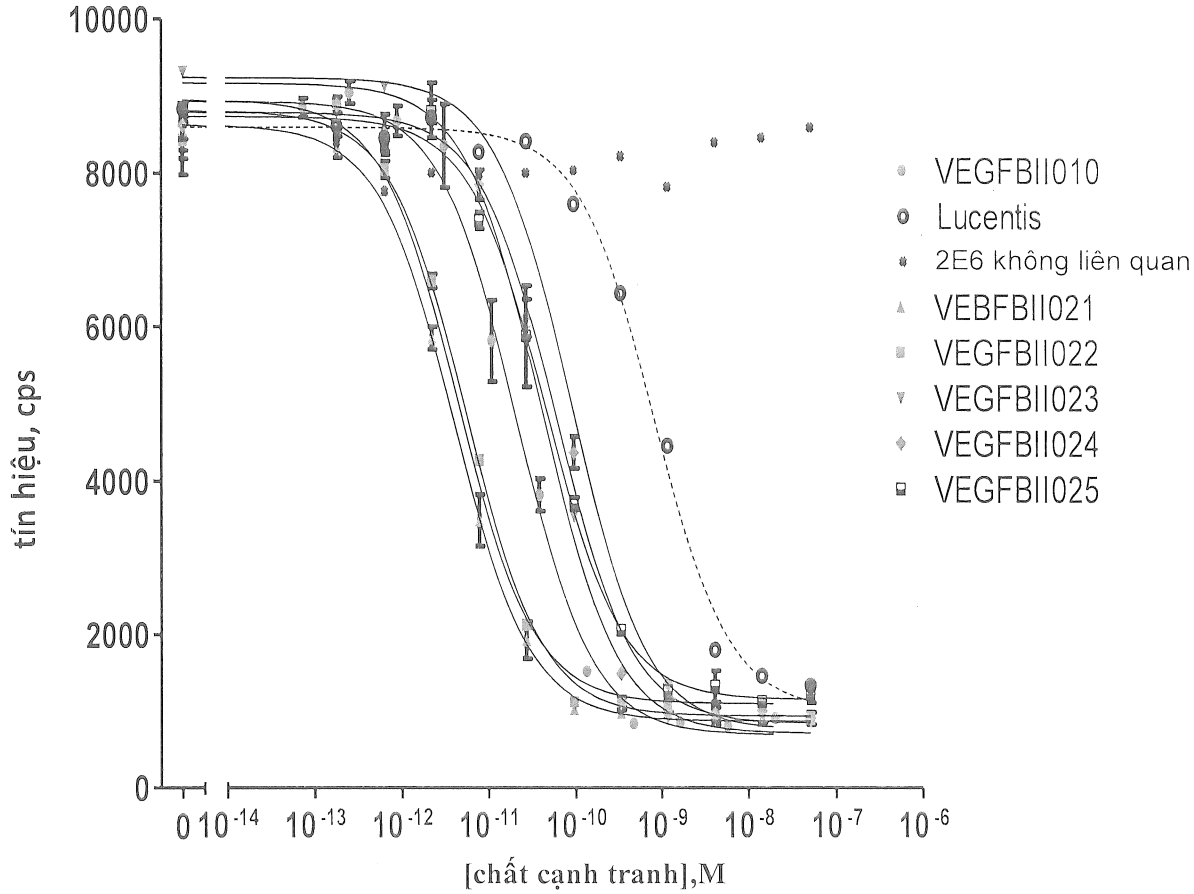

10000
8000
6000
4000
2000
0
tín hiệu, cps
0 10-14 10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6
[chất cạnh tranh],M
VEGFBII010
Lucentis
2E6 không liên quan
VEBFBII021
VEGFBII022
VEGFBII023
VEGFBII024
VEGFBII025

Fig.11

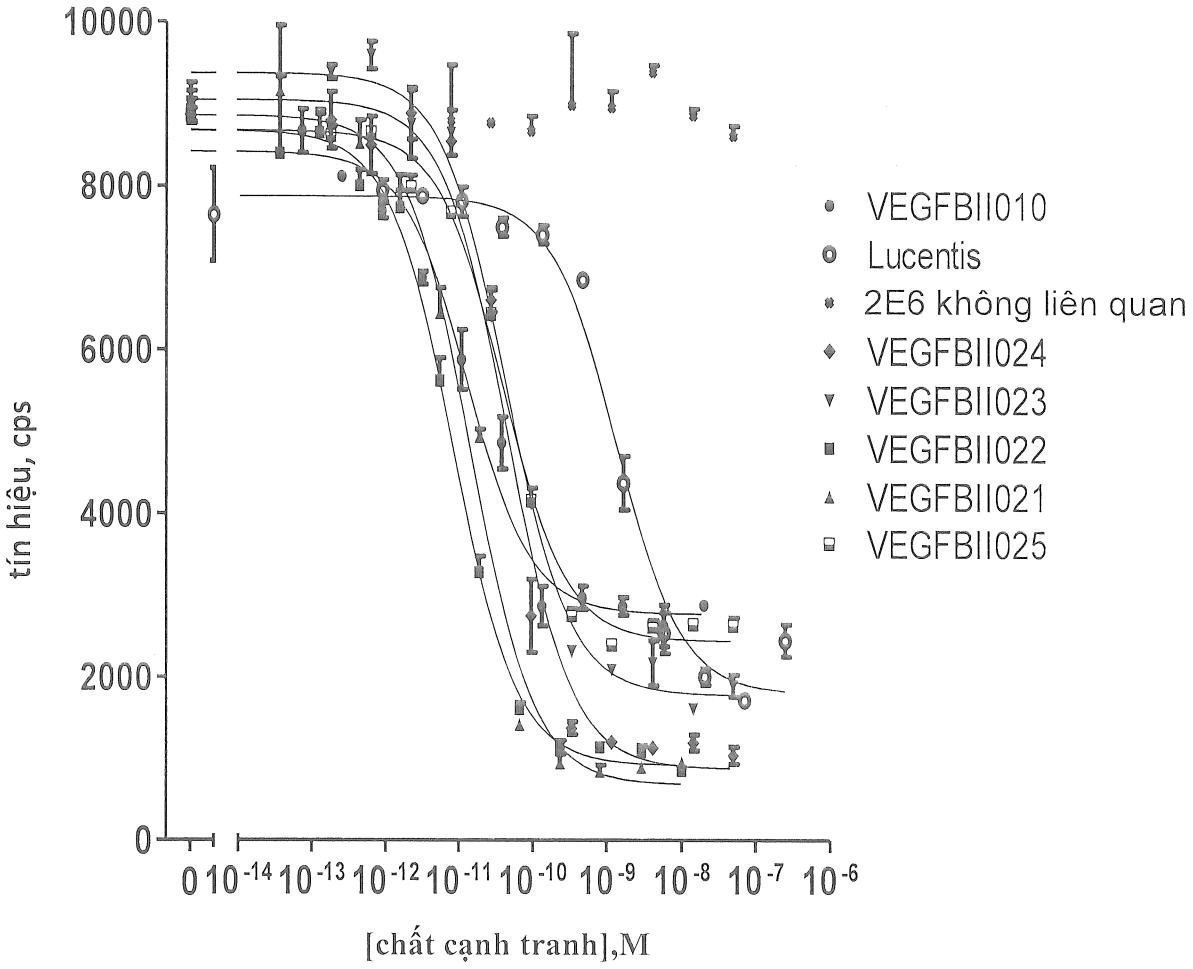

10000
8000
6000
4000
2000
0
tín hiệu, cps
0 10-14 10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6
[chất cạnh tranh],M
VEGFBII010
Lucentis
2E6 không liên quan
VEGFBII024
VEGFBII023
VEGFBII022
VEGFBII021
VEGFBII025

Fig.12

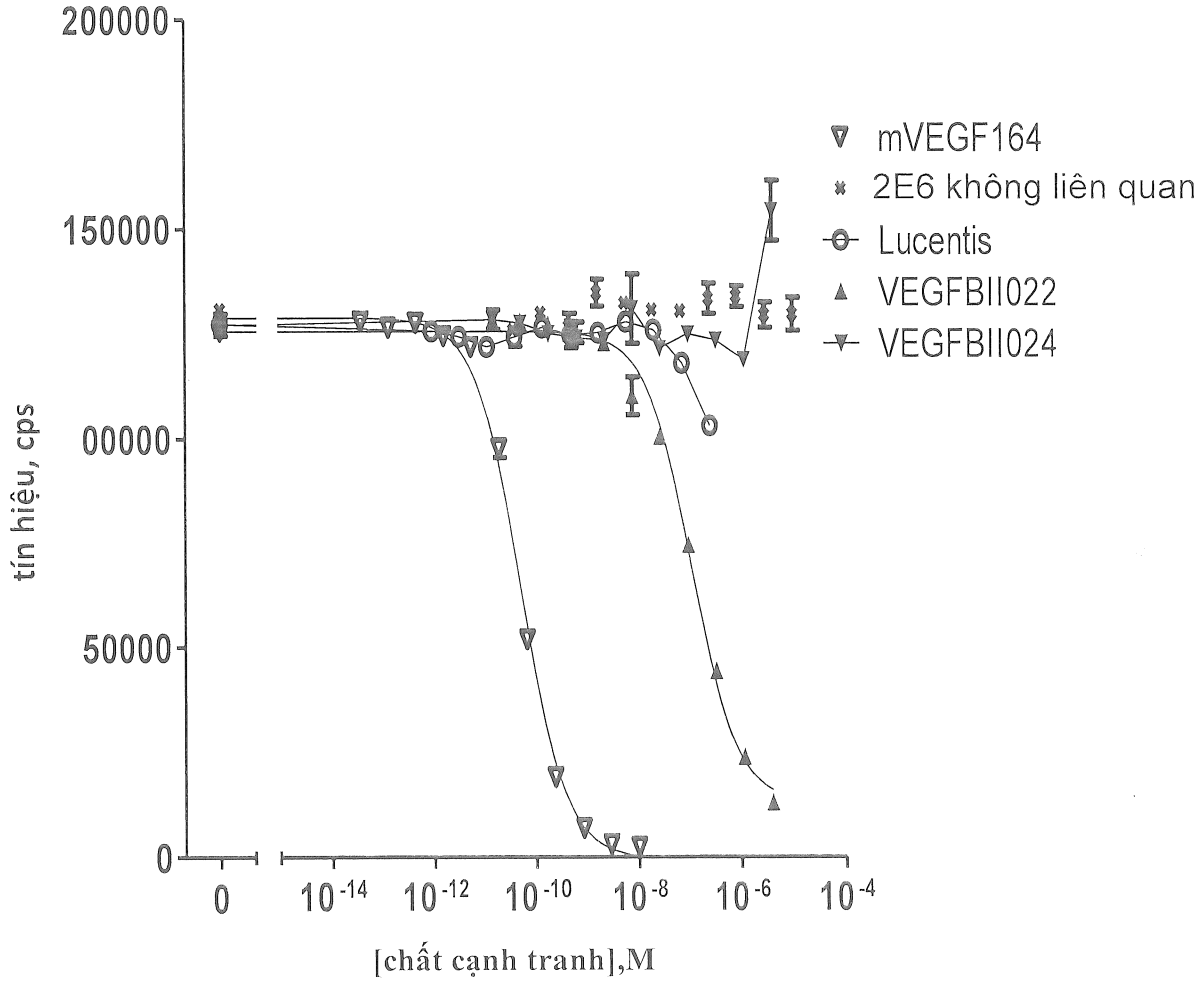
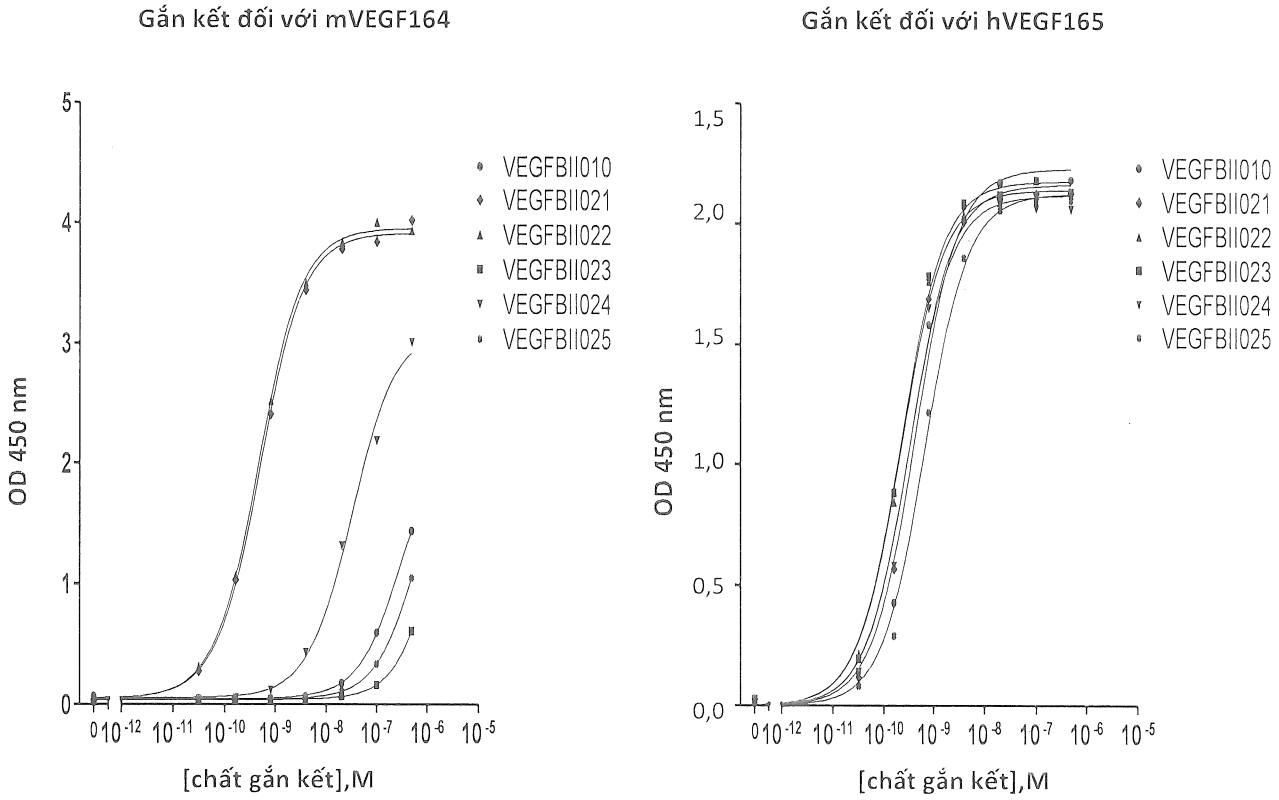

200000
150000
00000
50000
0
tín hiệu, cps
0
10-14
10-12
10-10
10-8
10-6
10-4
[chất cạnh tranh],M
mVEGF164
2E6 không liên quan
Lucentis
VEGFBII022
VEGFBII024

Fig.13


Gắn kết đối với mVEGF164
OD 450 nm
[chất gắn kết],M
VEGFBII010
VEGFBII021
VEGFBII022
VEGFBII023
VEGFBII024
VEGFBII025
Gắn kết đối với hVEGF165
OD 450 nm
[chất gắn kết],M
VEGFBII010
VEGFBII021
VEGFBII022
VEGFBII023
VEGFBII024
VEGFBII025

14 / 125

Fig.14-1

A

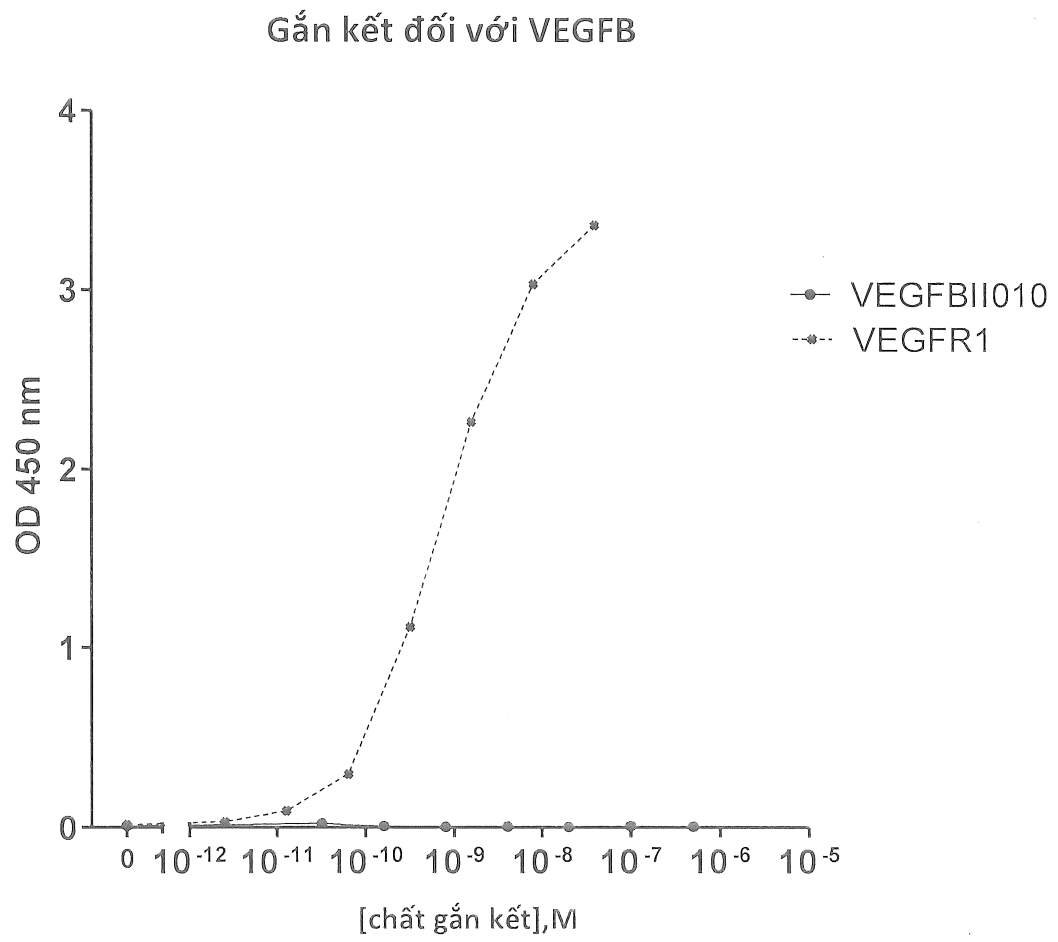


Fig.14-2

B

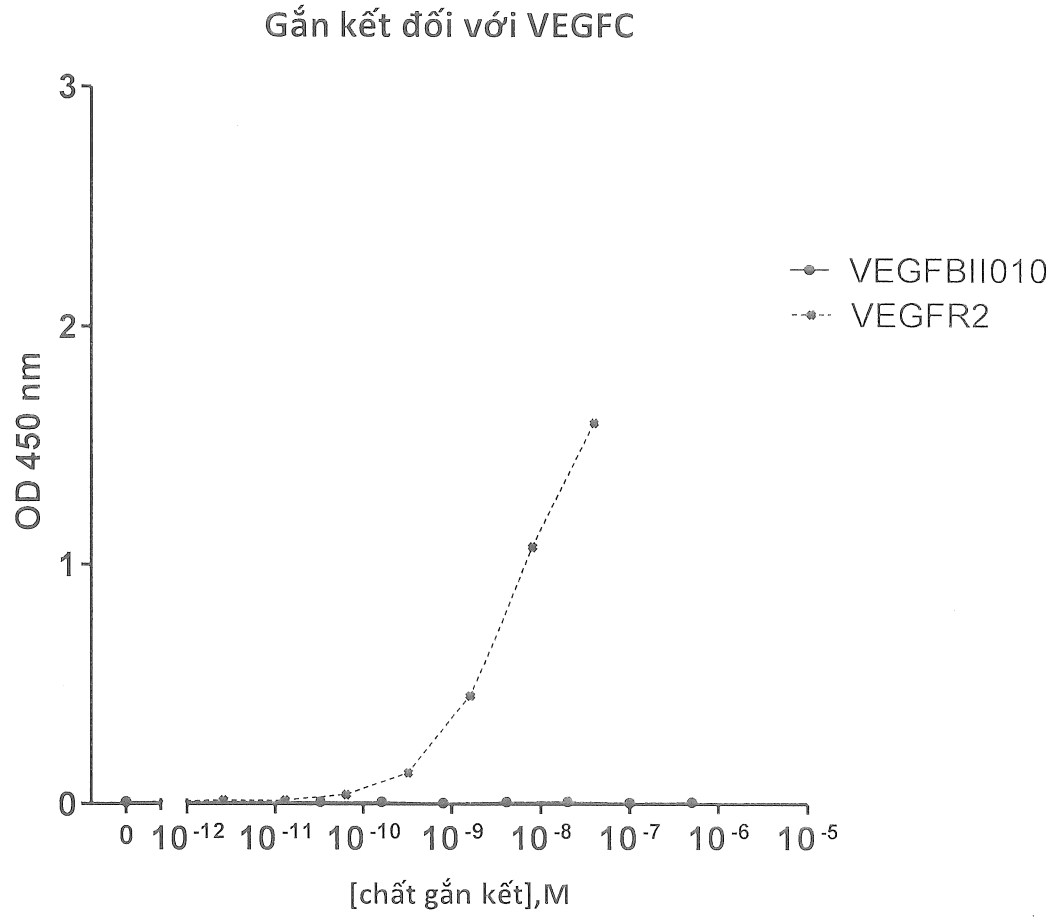

Gắn kết đối với VEGFC
OD 450 nm
3
2
1
0
VEGFBII010
VEGFR2
0
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
10-5
[chất gắn kết],M

Fig.14-3

C

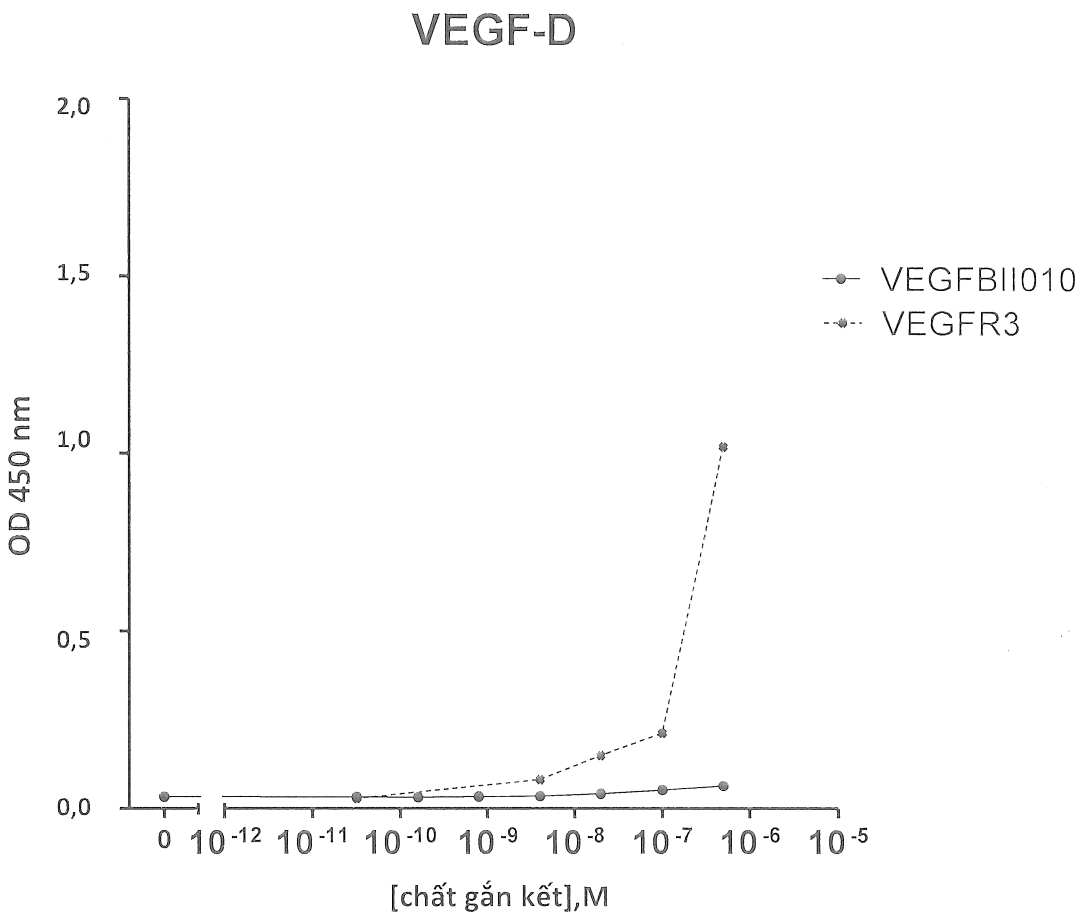

VEGF-D
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450 nm
VEGFBII010
VEGFR3
0
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
10-5
[chất gắn kết],M

Fig.14-4

D

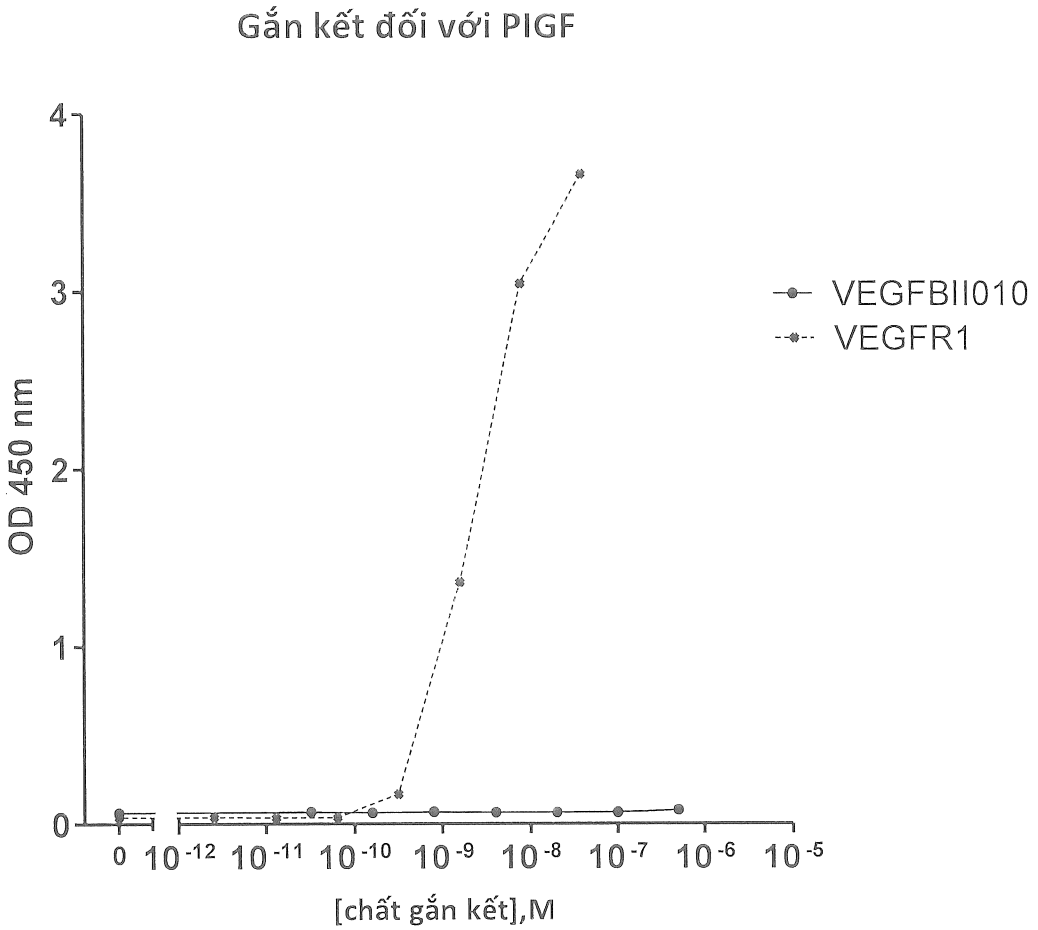

Gắn kết đối với PIGF
OD 450 nm
4
3
2
1
0
0
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
10-5
[chất gắn kết],M
VEGFBII010
VEGFR1

Fig.14-5

E

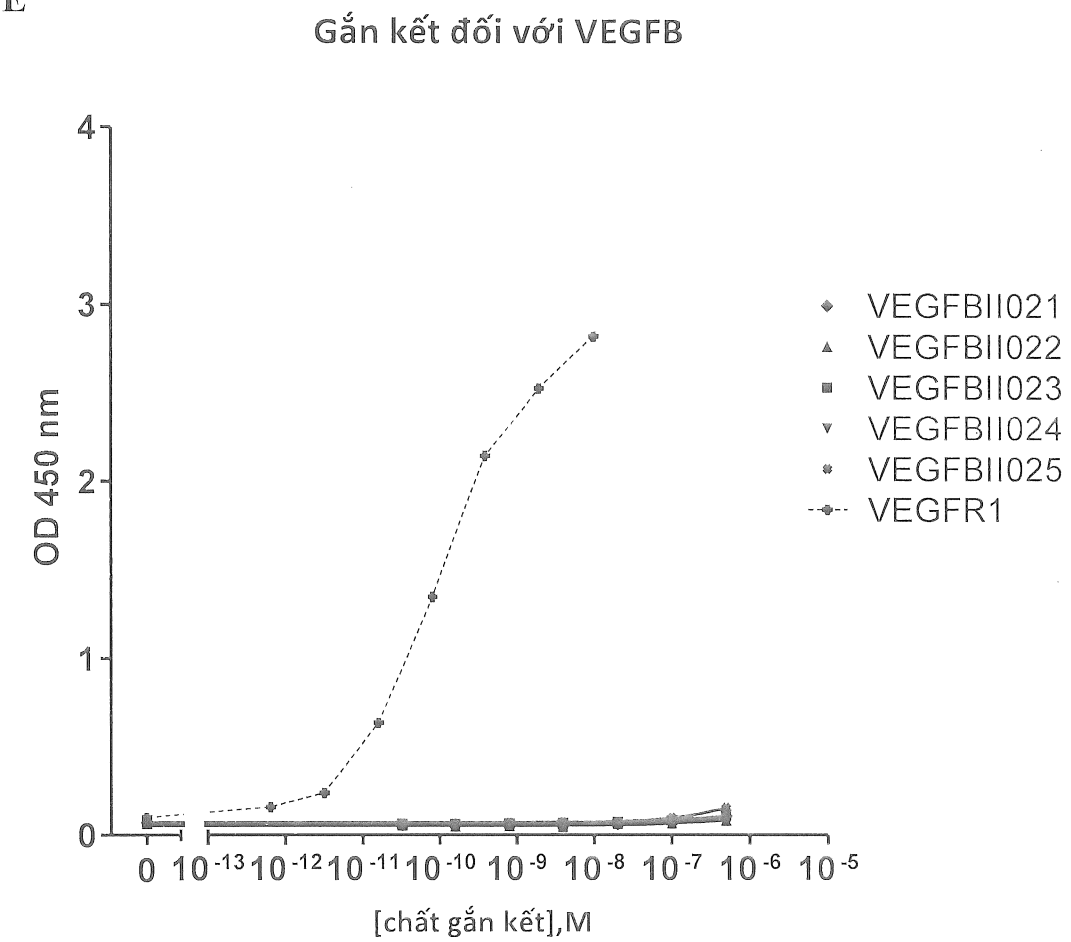

Gắn kết đối với VEGFB
OD 450 nm
0
1
2
3
4
0 10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất gắn kết],M
VEGFBII021
VEGFBII022
VEGFBII023
VEGFBII024
VEGFBII025
VEGFR1

Fig.14-6

F

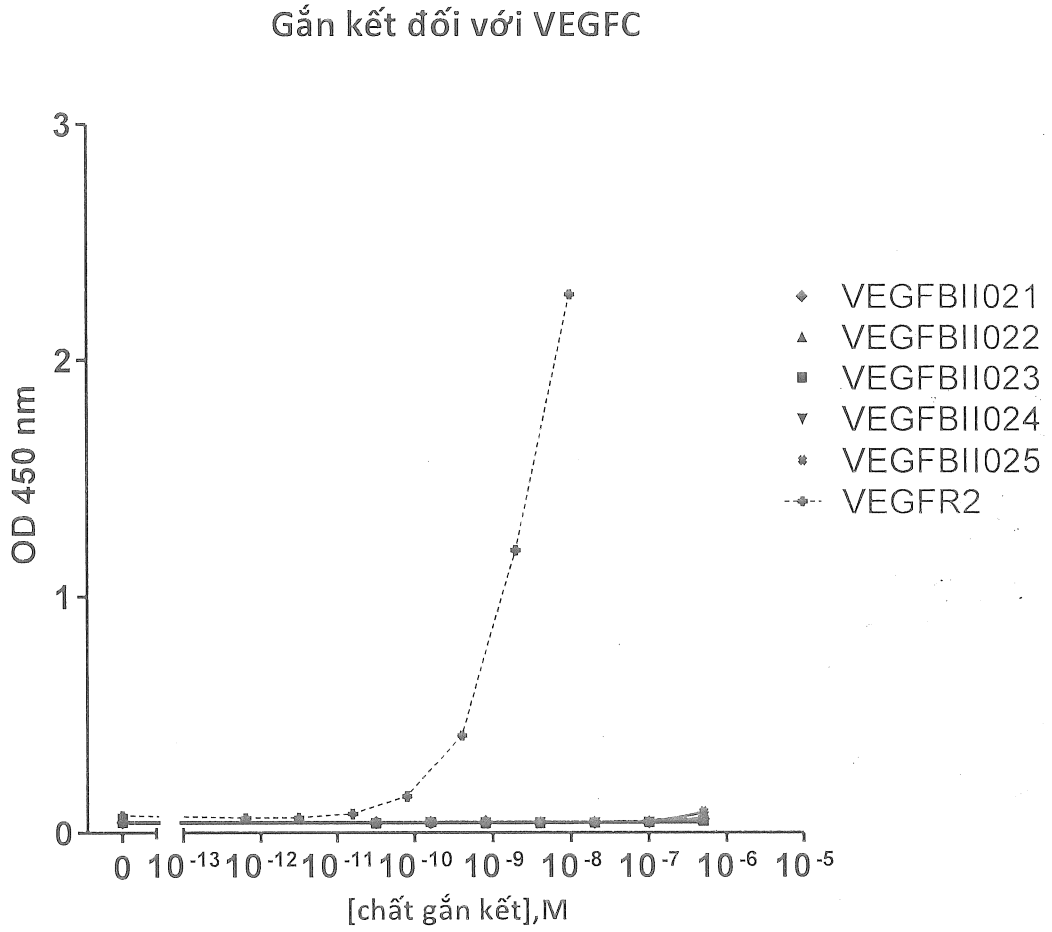

Gắn kết đối với VEGFC
OD 450 nm
3
2
1
0
0 10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất gắn kết],M
VEGFBII021
VEGFBII022
VEGFBII023
VEGFBII024
VEGFBII025
VEGFR2

Fig.14-7

G

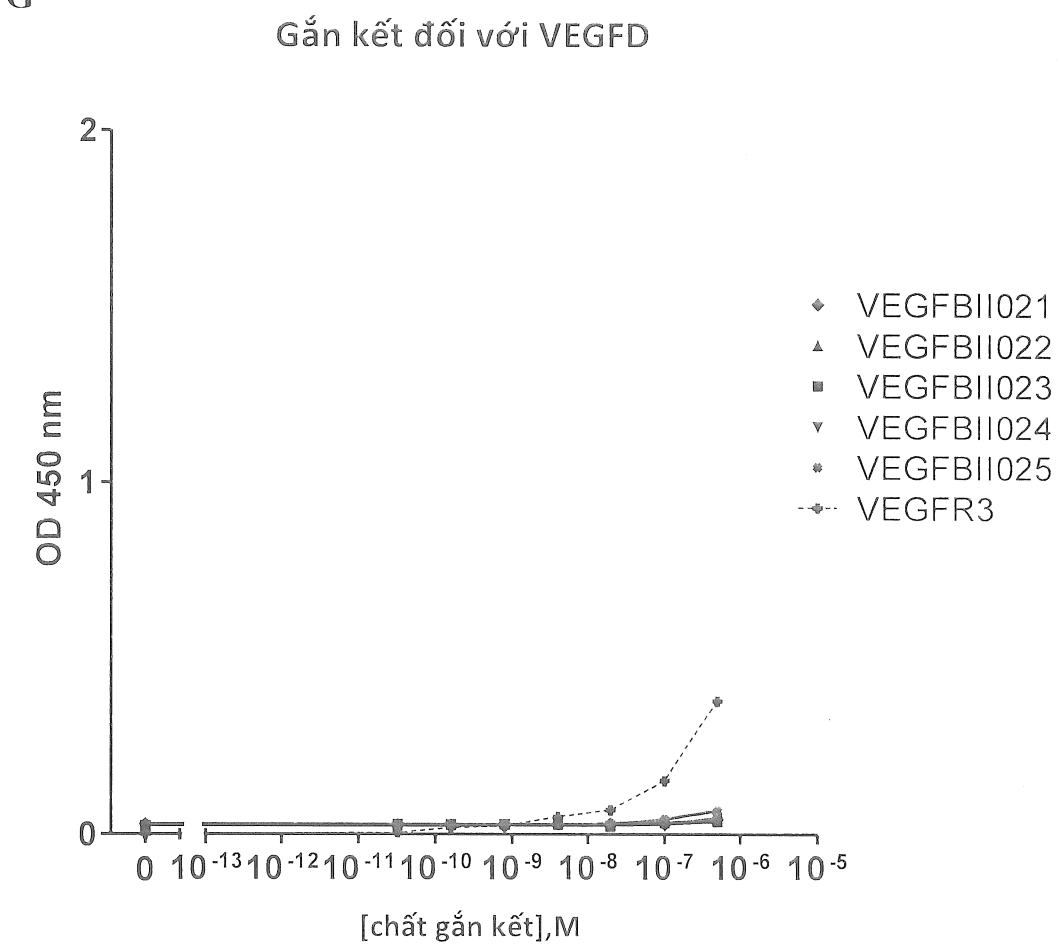

Gắn kết đối với VEGFD
OD 450 nm
2
1
0
0 10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất gắn kết],M
VEGFBII021
VEGFBII022
VEGFBII023
VEGFBII024
VEGFBII025
VEGFR3

Fig.14-8

H

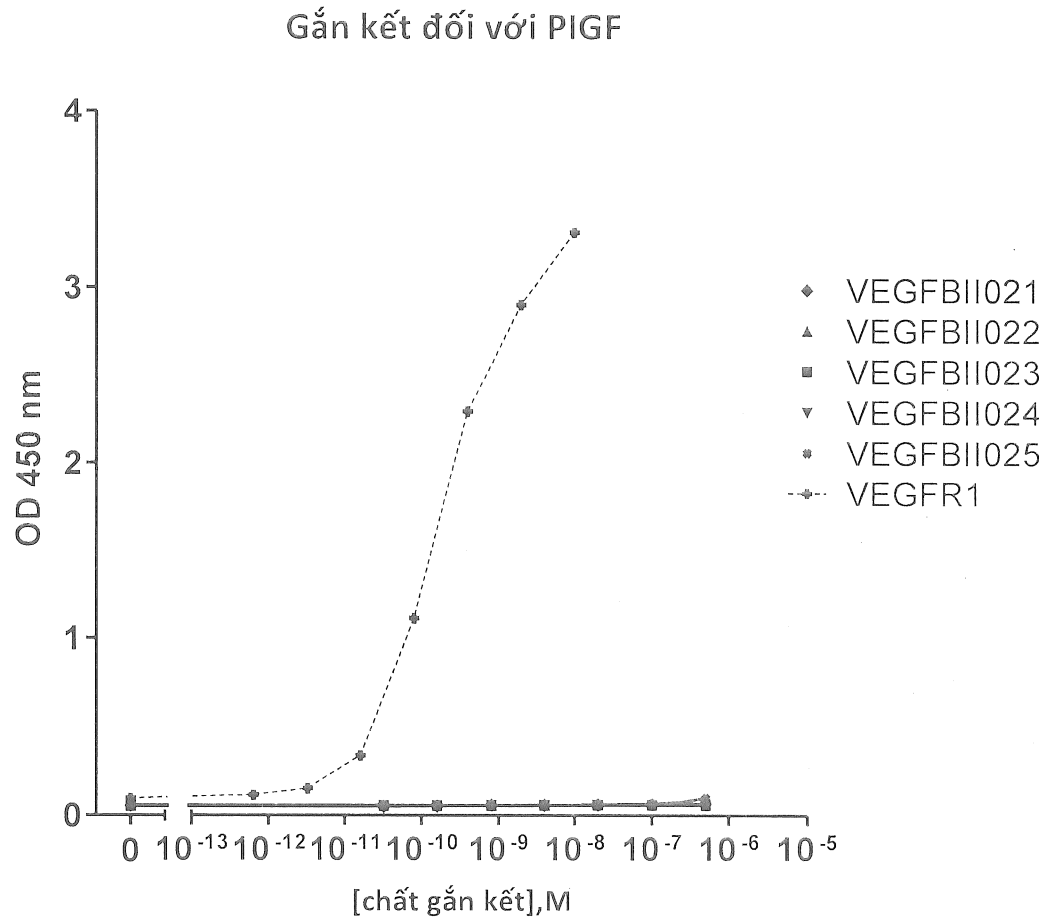

Gắn kết đối với PIGF
OD 450 nm
4
3
2
1
0
0 10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[chất gắn kết],M
VEGFBII021
VEGFBII022
VEGFBII023
VEGFBII024
VEGFBII025
VEGFR1

Fig.15

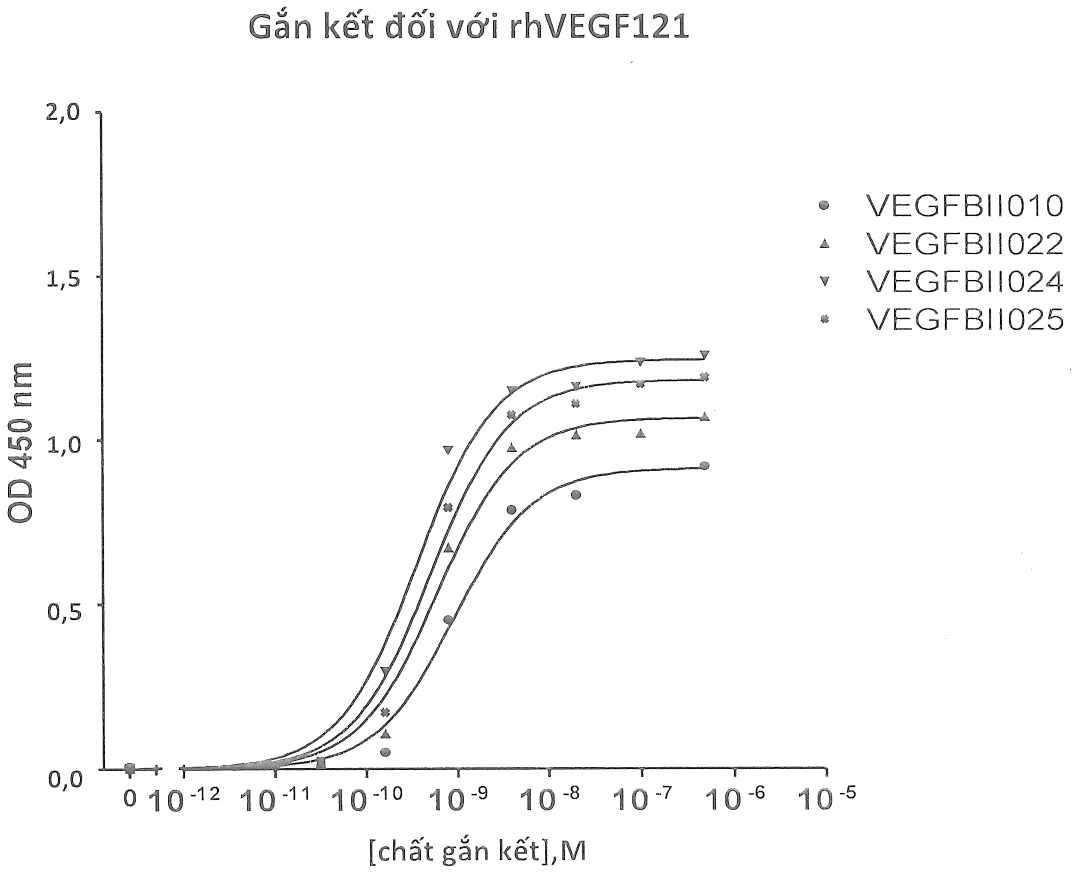

Gắn kết đối với rhVEGF121
OD 450 nm
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
10-5
[chất gắn kết],M
VEGFBII010
VEGFBII022
VEGFBII024
VEGFBII025

Fig.16

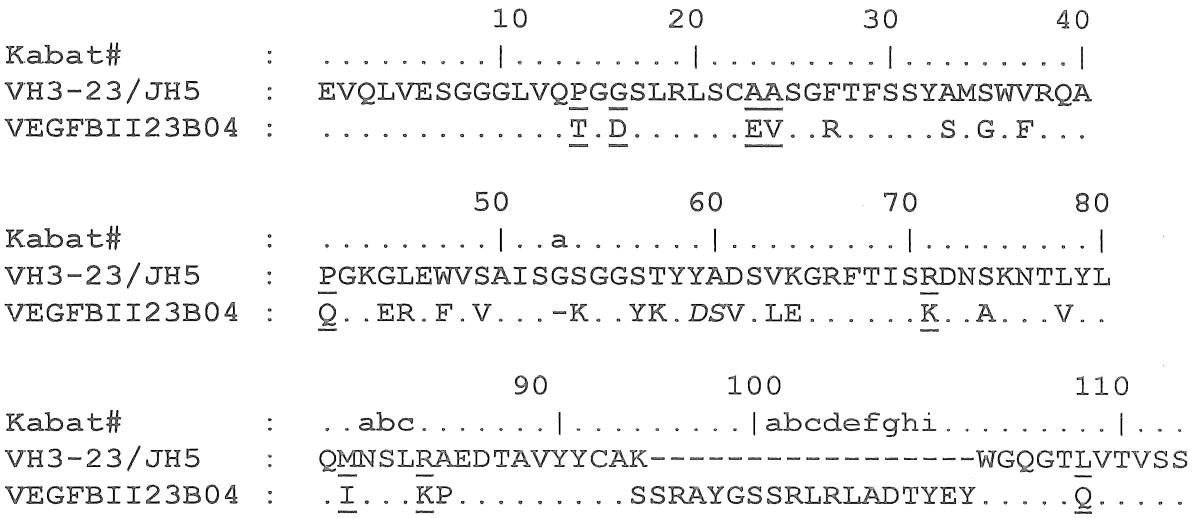

10 20 30 40
Kabat# : .....|.....|.....|.....|
VH3-23/JH5 : EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA
VEGFBII23B04 : .....T.D.....EV..R.....S.G.F...
50 60 70 80
Kabat# : .....|..a.....|.....|.....|
VH3-23/JH5 : PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL
VEGFBII23B04 : Q..ER.F.V...-K..YK.DSV.LE.....K..A...V..
90 100 110
Kabat# : ..abc.....|.....|abcdefghi.....|...
VH3-23/JH5 : QMNSLRAEDTAVYYCAK----------WGQGTLVTVSS
VEGFBII23B04 : .I...KP.....SSRAYGSSRLRLADTYEY.....Q.....

Fig.17

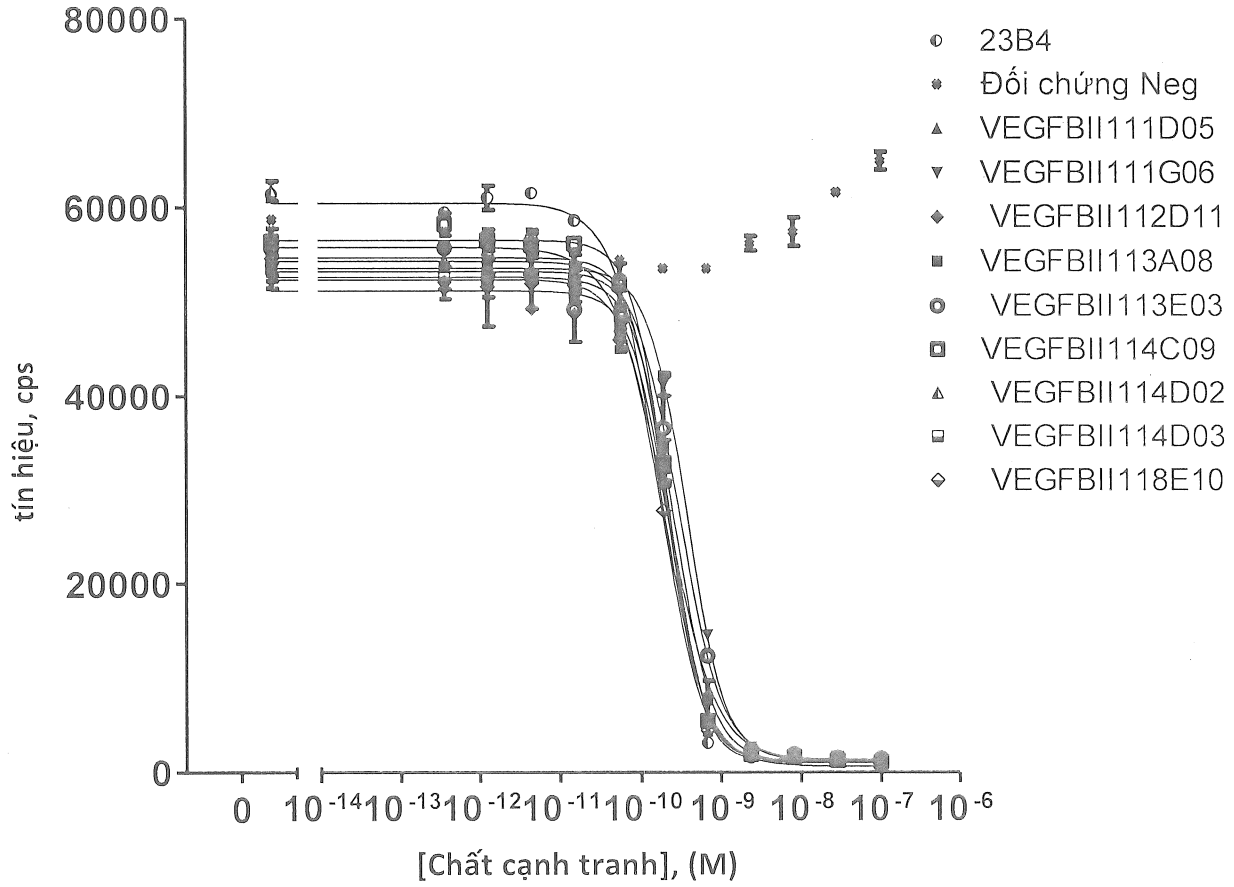

80000
60000
40000
20000
0
tín hiệu, cps
0
10-14
10-13
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
[Chất cạnh tranh], (M)
23B4
Đối chứng Neg
VEGFBII111D05
VEGFBII111G06
VEGFBII112D11
VEGFBII113A08
VEGFBII113E03
VEGFBII114C09
VEGFBII114D02
VEGFBII114D03
VEGFBII118E10

Fig.18

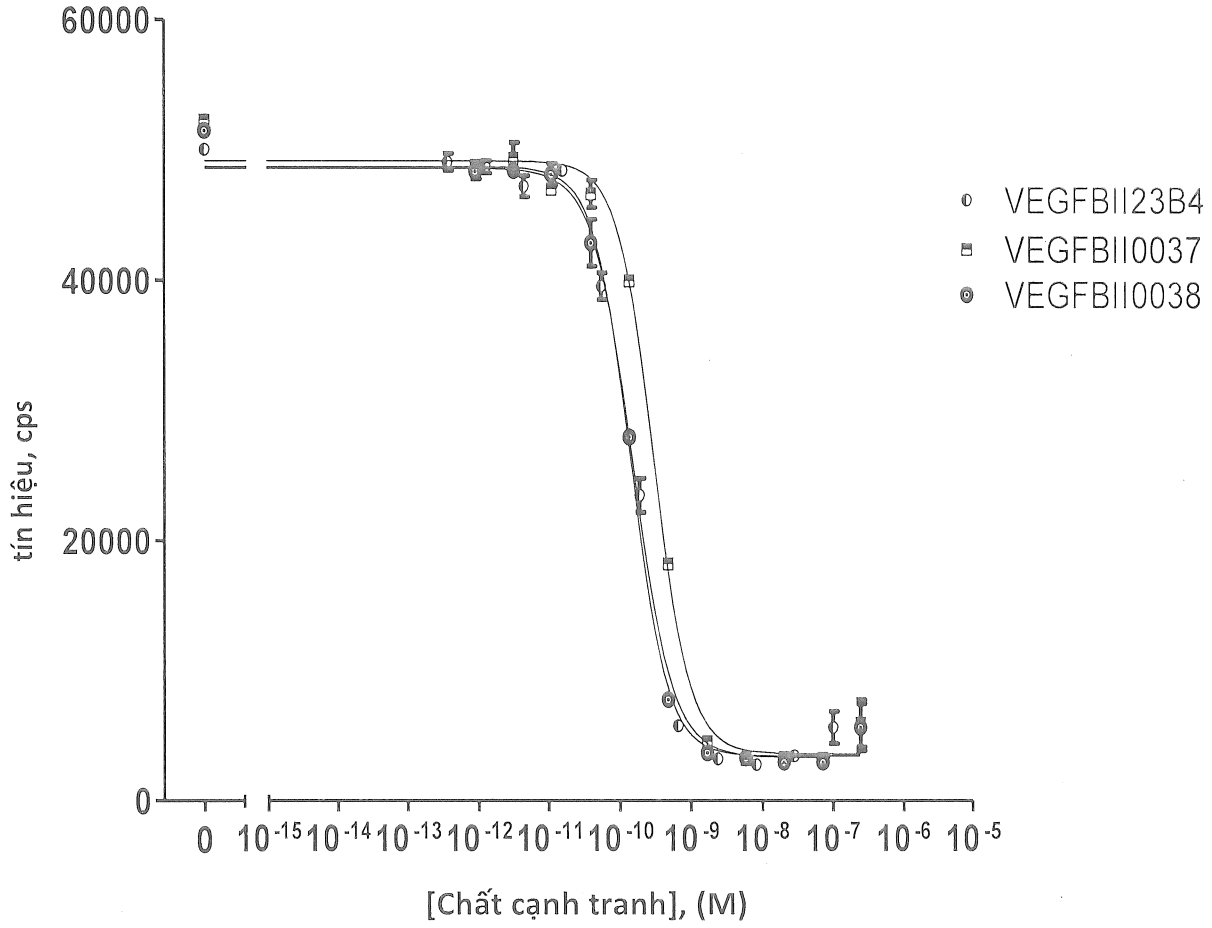

60000
40000
20000
0
tín hiệu, cps
0 10-15 10-14 10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5
[Chất cạnh tranh], (M)
VEGFBII23B4
VEGFBII0037
VEGFBII0038

Fig.19

```
                          10         20         30         40
Kabat#            : .........|.........|.........|.........|
VH3-23/JH5        : EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA
PVEGFBIIPMP5B5    : ......................V...IR.MSM.--.Y...

                          50         60         70         80
Kabat#            : .........|..a.....|.........|.........|
VH3-23/JH5        : PGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYL
PVEGFBIIPMP5B5    : ...HR.L.AR..-...T.A.V..................V..

                               90        101       110
Kabat#            : ..abc.....|.........|.........|...
VH3-23/JH5        : QMNSLRAEDTAVYYCAK-------WGQGTLVTVSS
PVEGFBIIPMP5B5    : .....KA........NTFSSRPNP..A..Q.....
```

27 / 125

Fig.20

VHH ID	Dạng mẫu	Mô tả
ANGBII00001		1D01-9gs-1D01
ANGBII00002		1D01-40gs-1D01
ANGBII00003		11B07-9gs-11B07
ANGBII00004		00027-9gs-00027
ANGBII00005		00027-40gs-00027
ANGBII00006		00908-9gs-00908

Ghi chú:

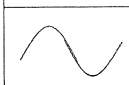
	Mô tả
	1D01
	11B07
	00027
	00908
	Cầu liên kết *9 GlySer*
	Cầu liên kết *40 GlySer*

Fig.21-1A

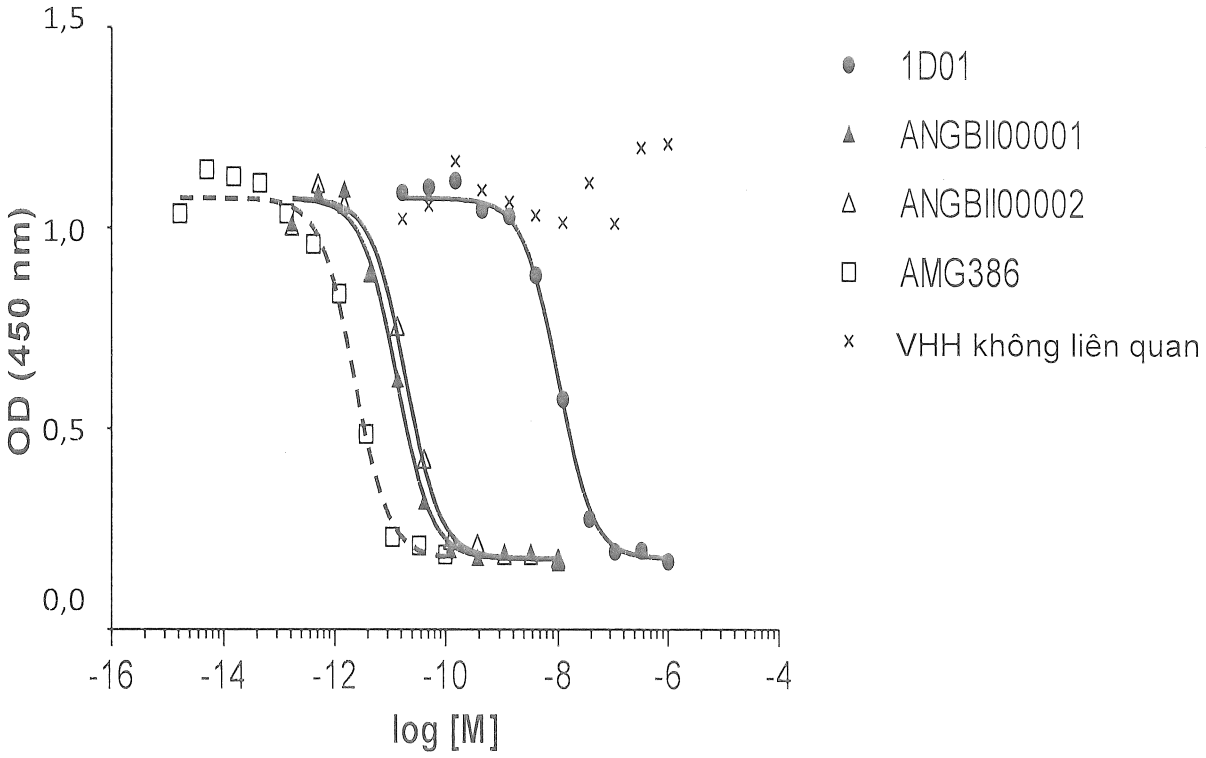

1,5
1,0
0,5
0,0
OD (450 nm)
-16
-14
-12
-10
-8
-6
-4
log [M]
1D01
ANGBII00001
ANGBII00002
AMG386
VHH không liên quan

Fig.21-1B

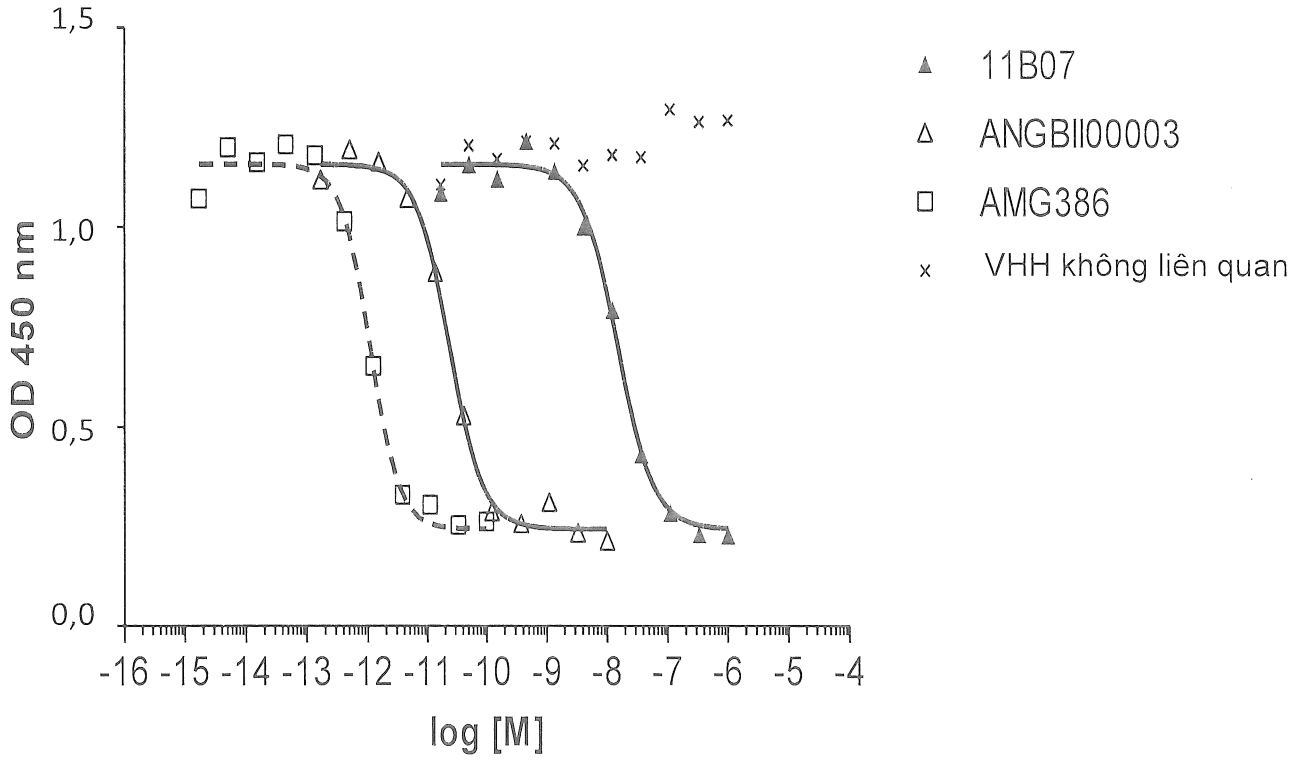

1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450 nm
-16 -15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6 -5 -4
log [M]
11B07
ANGBII00003
AMG386
VHH không liên quan

Fig.21-1C

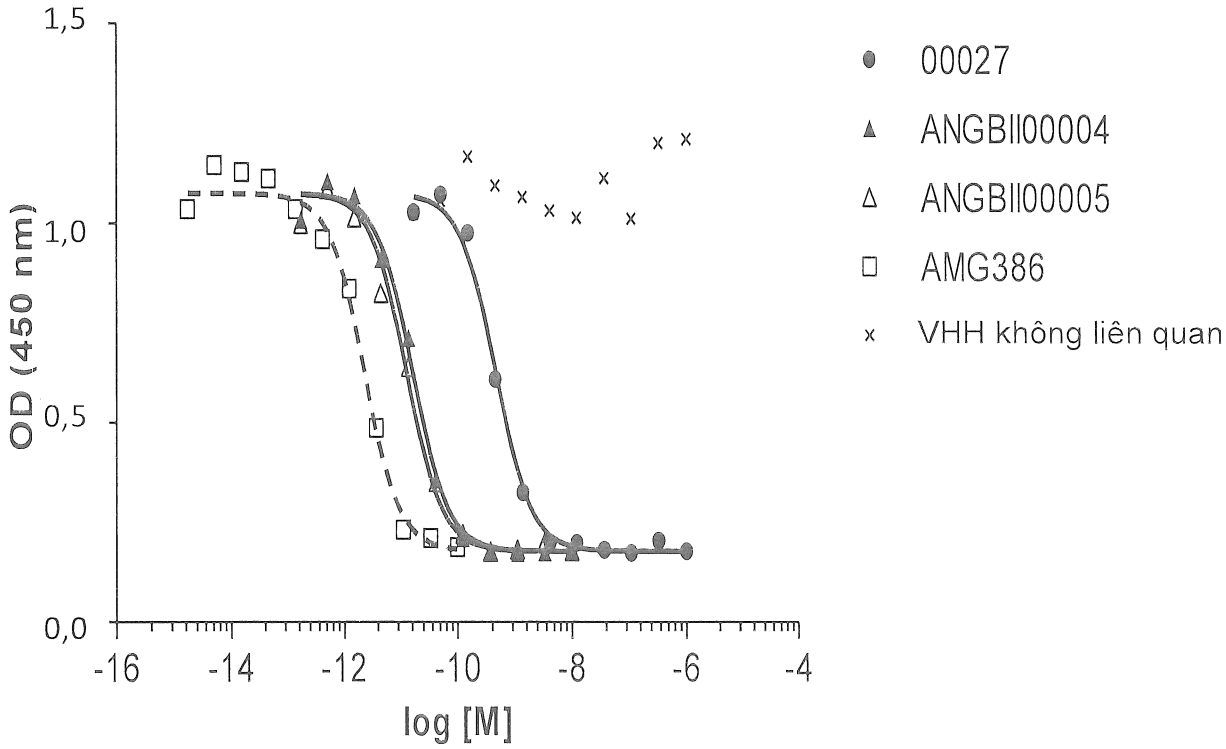

1,5
1,0
0,5
0,0
OD (450 nm)
-16
-14
-12
-10
-8
-6
-4
log [M]
00027
ANGBII00004
ANGBII00005
AMG386
VHH không liên quan

Fig.21-1D

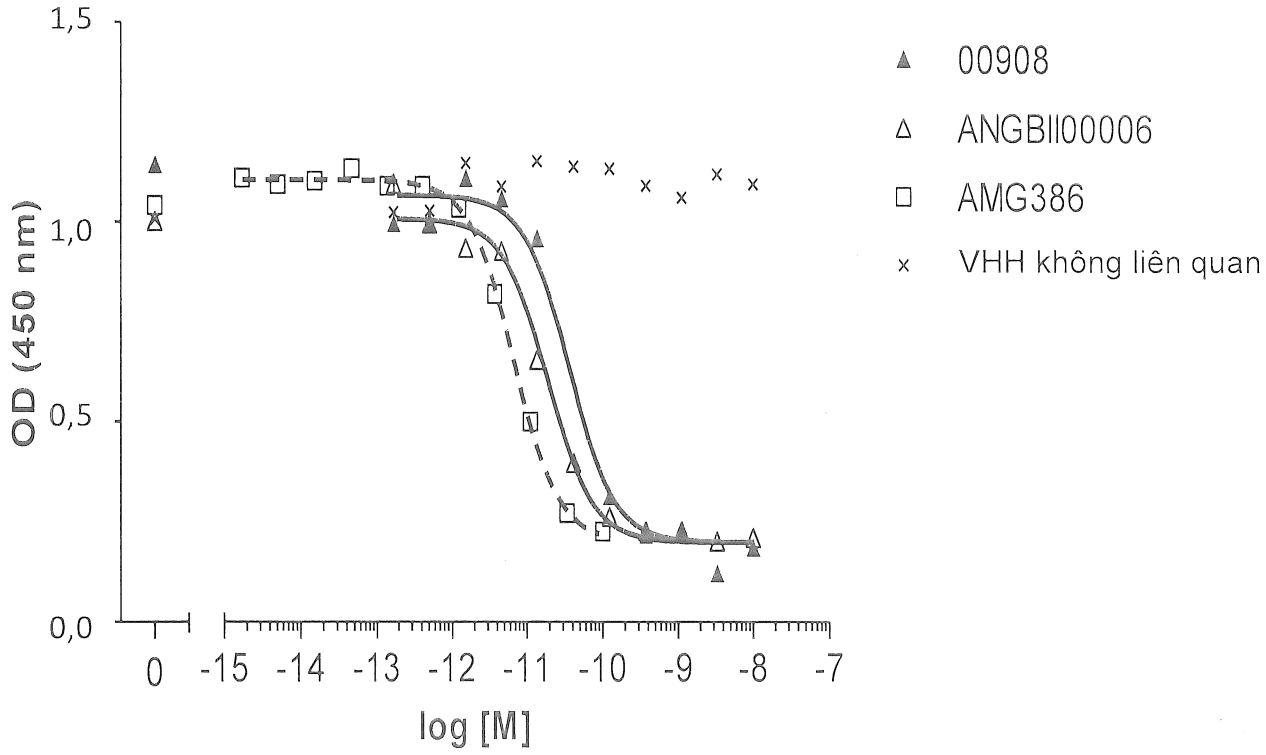

1,5
1,0
0,5
0,0
OD (450 nm)
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [M]
00908
ANGBII00006
AMG386
VHH không liên quan

Fig.21-2A

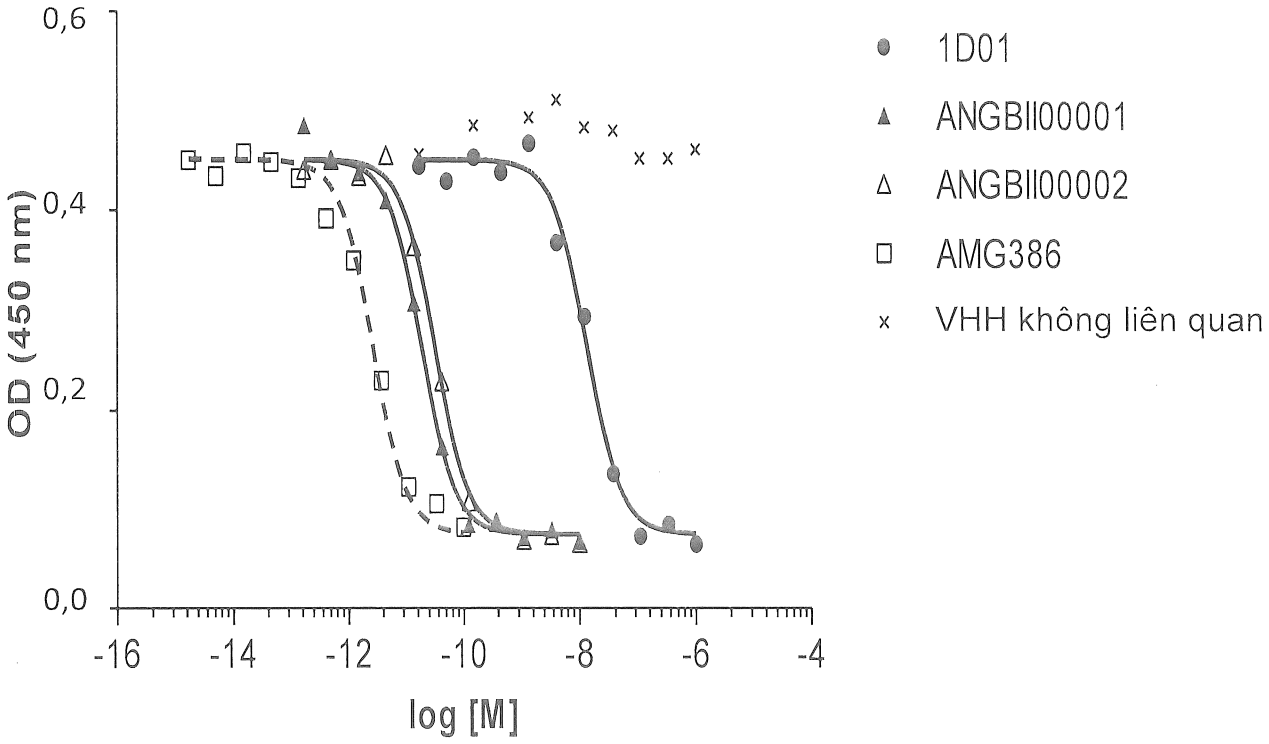

0,6
0,4
0,2
0,0
OD (450 nm)
-16
-14
-12
-10
-8
-6
-4
log [M]
1D01
ANGBII00001
ANGBII00002
AMG386
VHH không liên quan

Fig.21-2B

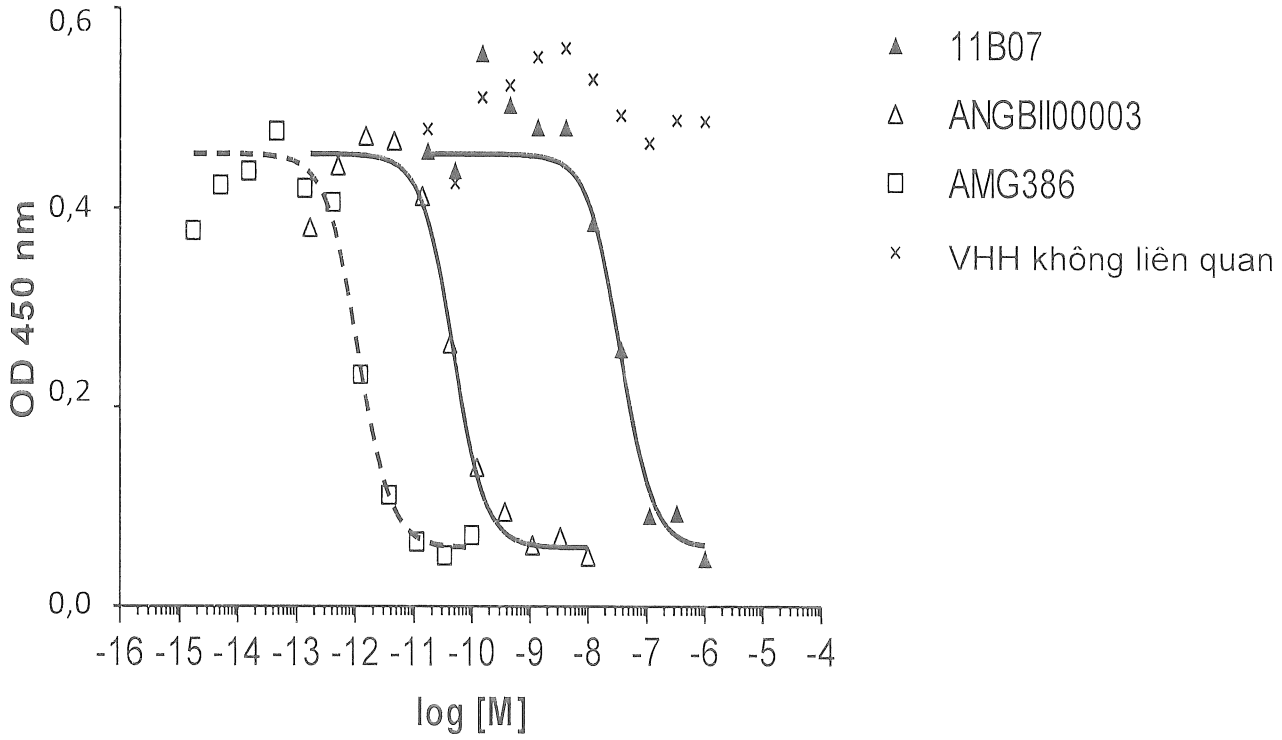

0,6
0,4
0,2
0,0
OD 450 nm
-16 -15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6 -5 -4
log [M]
11B07
ANGBII00003
AMG386
VHH không liên quan

Fig.21-2C

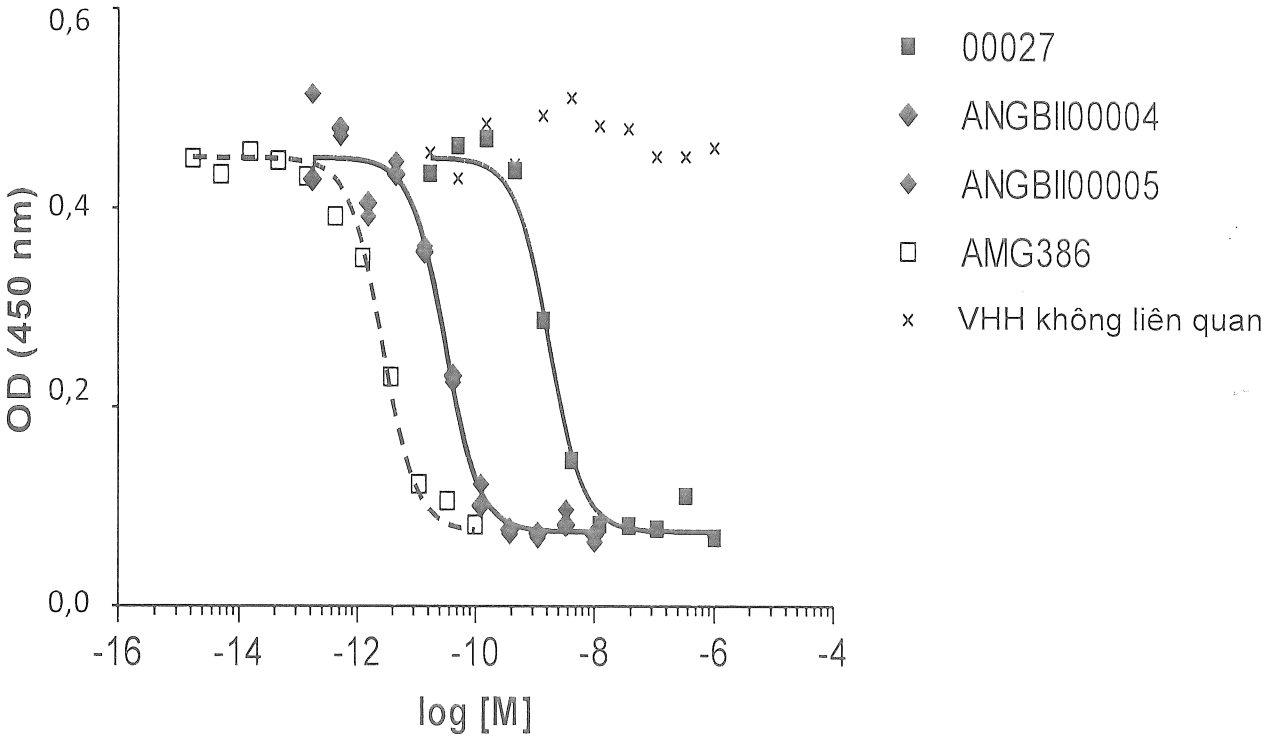

0,6
0,4
0,2
0,0
OD (450 nm)
-16
-14
-12
-10
-8
-6
-4
log [M]
00027
ANGBII00004
ANGBII00005
AMG386
VHH không liên quan

Fig.21-2D

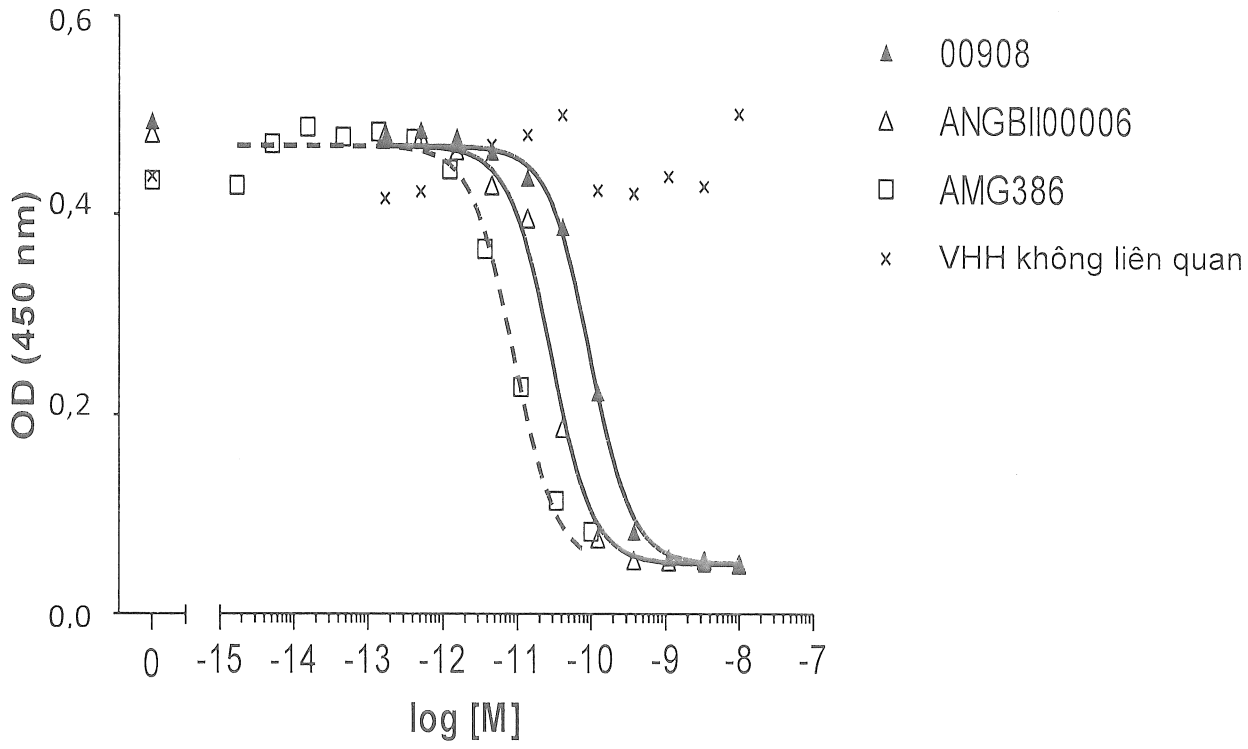

0,6
0,4
0,2
0,0
OD (450 nm)
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [M]
00908
ANGBII00006
AMG386
VHH không liên quan

Fig.21-3A

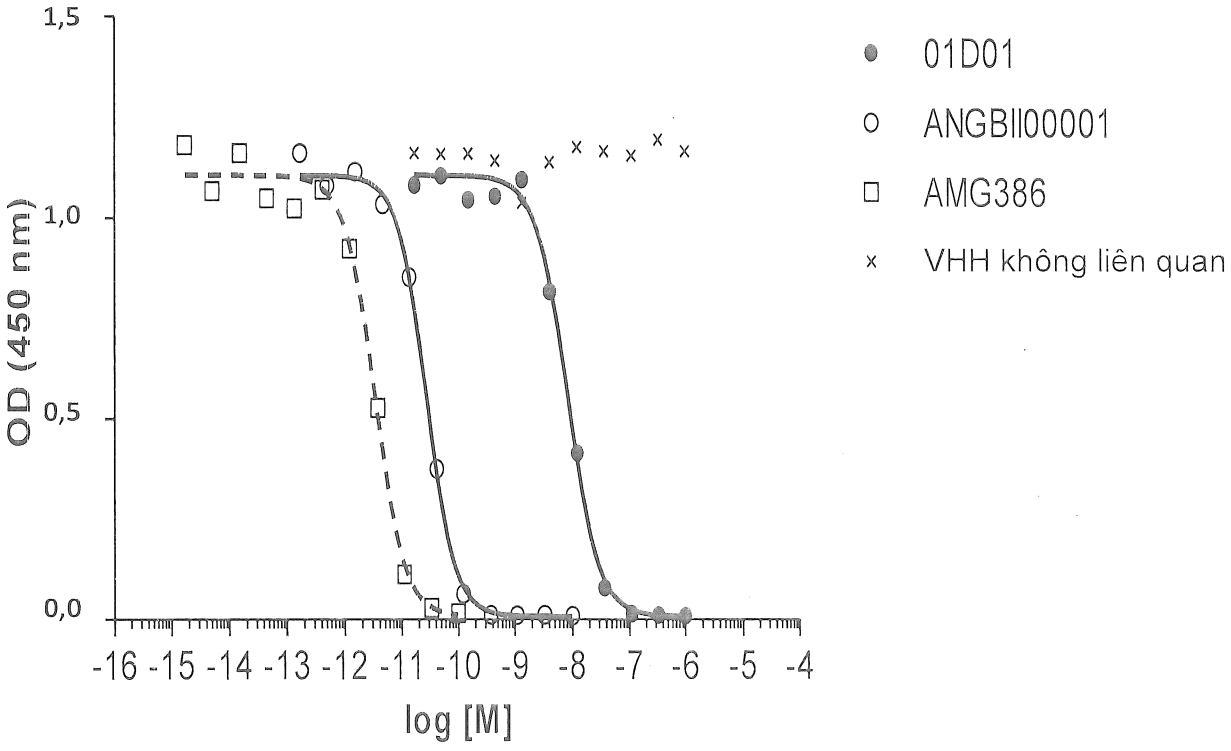

1,5
1,0
0,5
0,0
OD (450 nm)
-16 -15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6 -5 -4
log [M]
01D01
ANGBII00001
AMG386
VHH không liên quan

Fig.21-3B

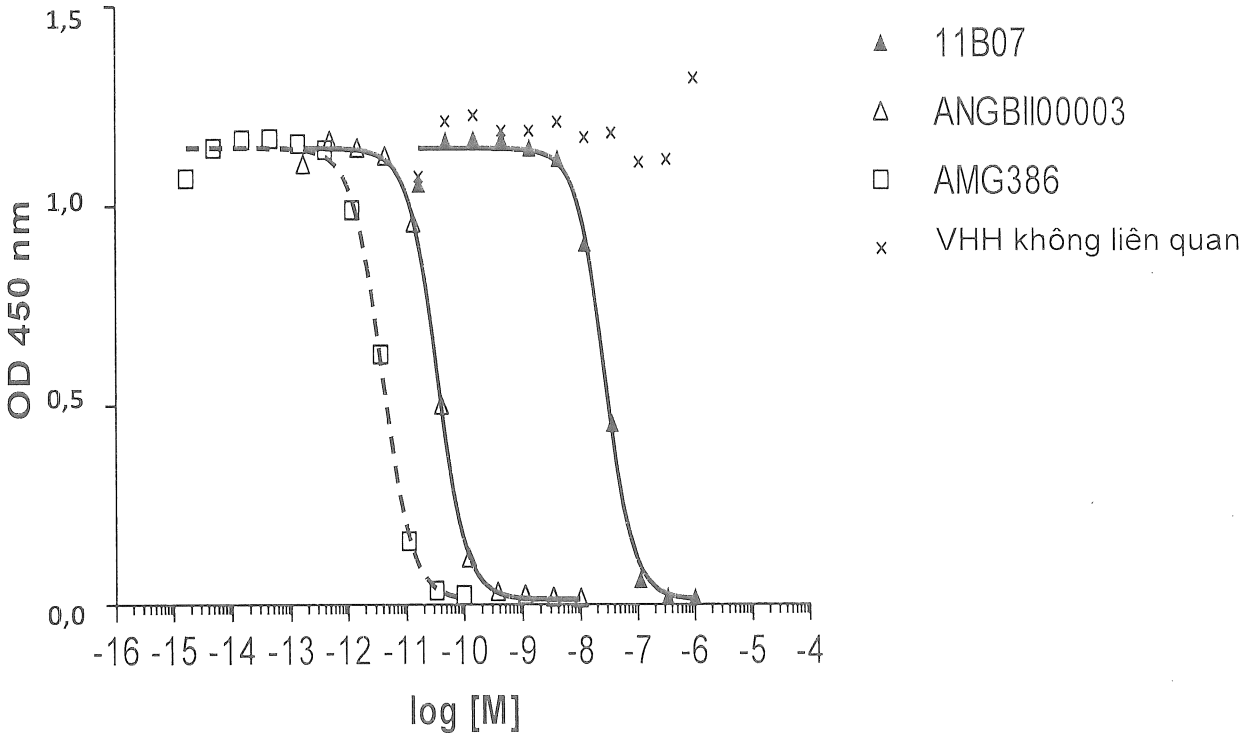

1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450 nm
-16 -15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6 -5 -4
log [M]
11B07
ANGBII00003
AMG386
VHH không liên quan

Fig.21-3C

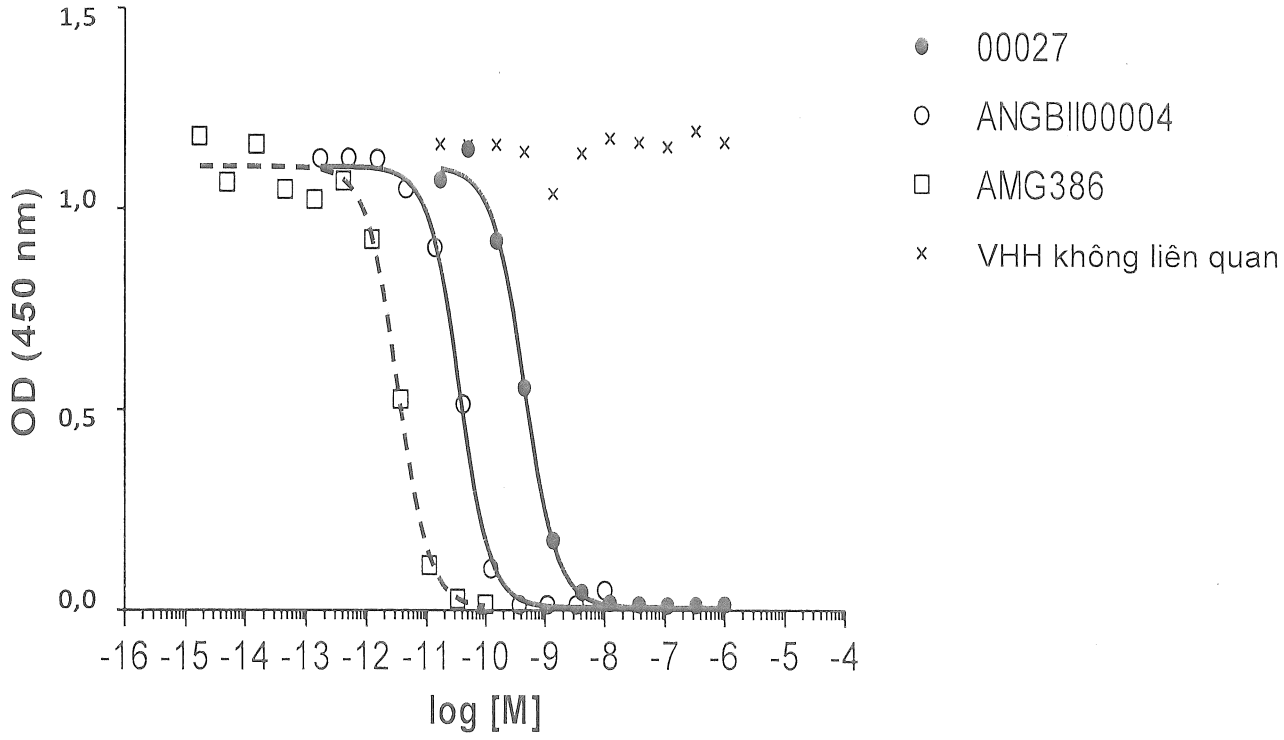

1,5
1,0
0,5
0,0
OD (450 nm)
-16 -15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6 -5 -4
log [M]
00027
ANGBII00004
AMG386
VHH không liên quan

Fig.21-3D

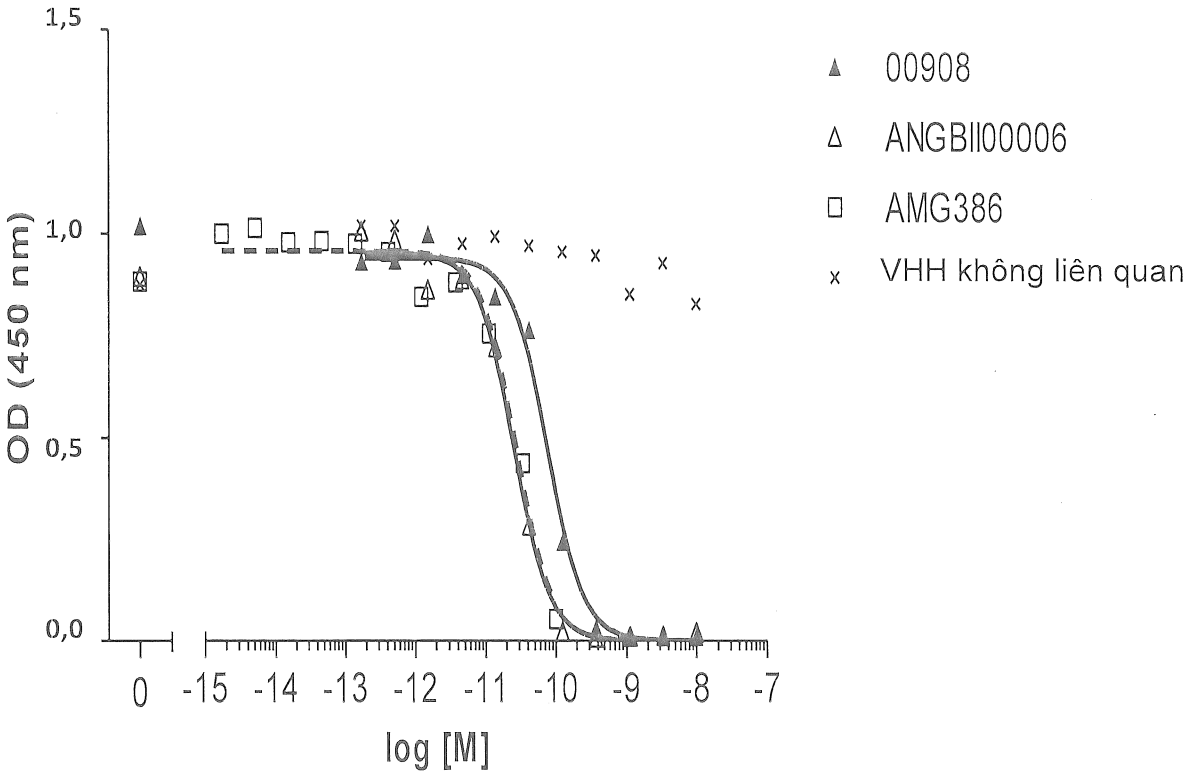
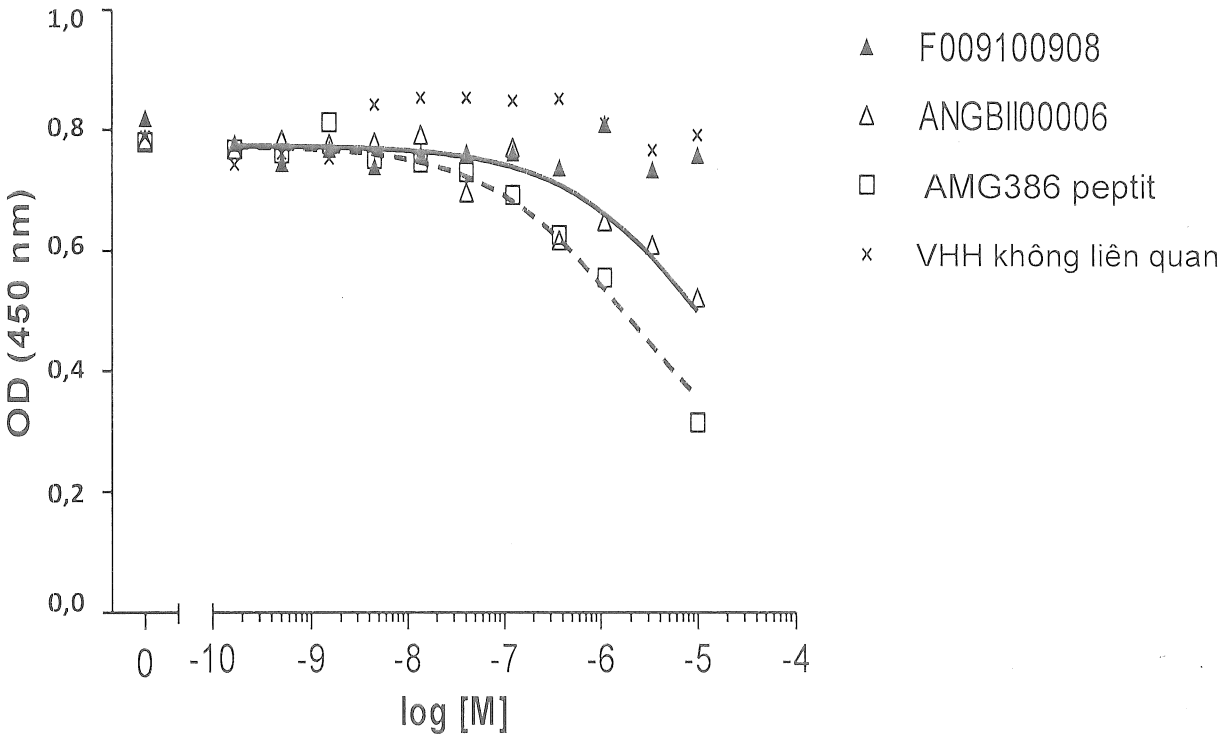

1,5
1,0
0,5
0,0
OD (450 nm)
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [M]
00908
ANGBII00006
AMG386
VHH không liên quan

Fig.22


1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
OD (450 nm)
0
-10
-9
-8
-7
-6
-5
-4
log [M]
F009100908
ANGBII00006
AMG386 peptit
VHH không liên quan

41 / 125

Fig.23

VHH ID	Dạng mẫu	Mô tả
VEGFANGBII00001		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00027
VEGFANGBII00002		00027-9gs-ALB11-9gs-VEGFBII00038
VEGFANGBII00003		00027-9gs-VEGFBII00038-9gs-ALB11
VEGFANGBII00004		VEGFBII00038-*AAA*-ALB11-*AAA*-00027

Ghi chú:

	Mô tả
	VEGFBII00038
	00027
	ALB11
AAA	Cầu liên kết *Ala* bậc ba
	Cầu liên kết *9 GlySer*

Fig.24A

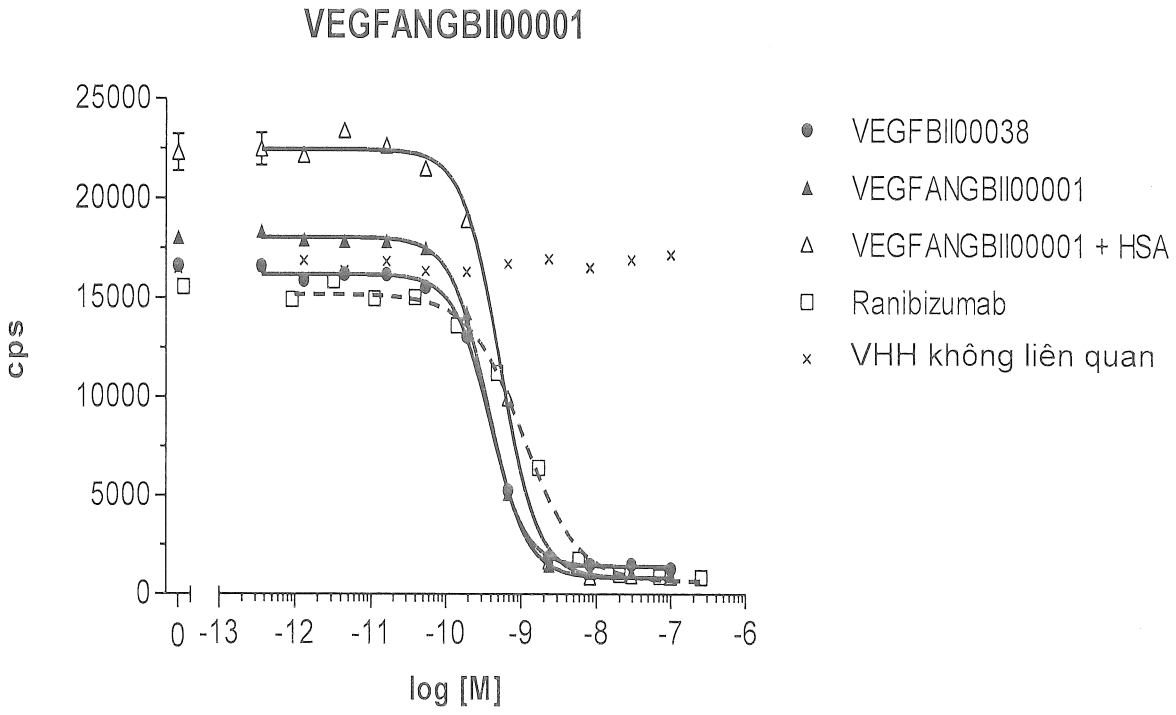

VEGFANGBII00001
cps
25000
20000
15000
10000
5000
0
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00001
VEGFANGBII00001 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.24B

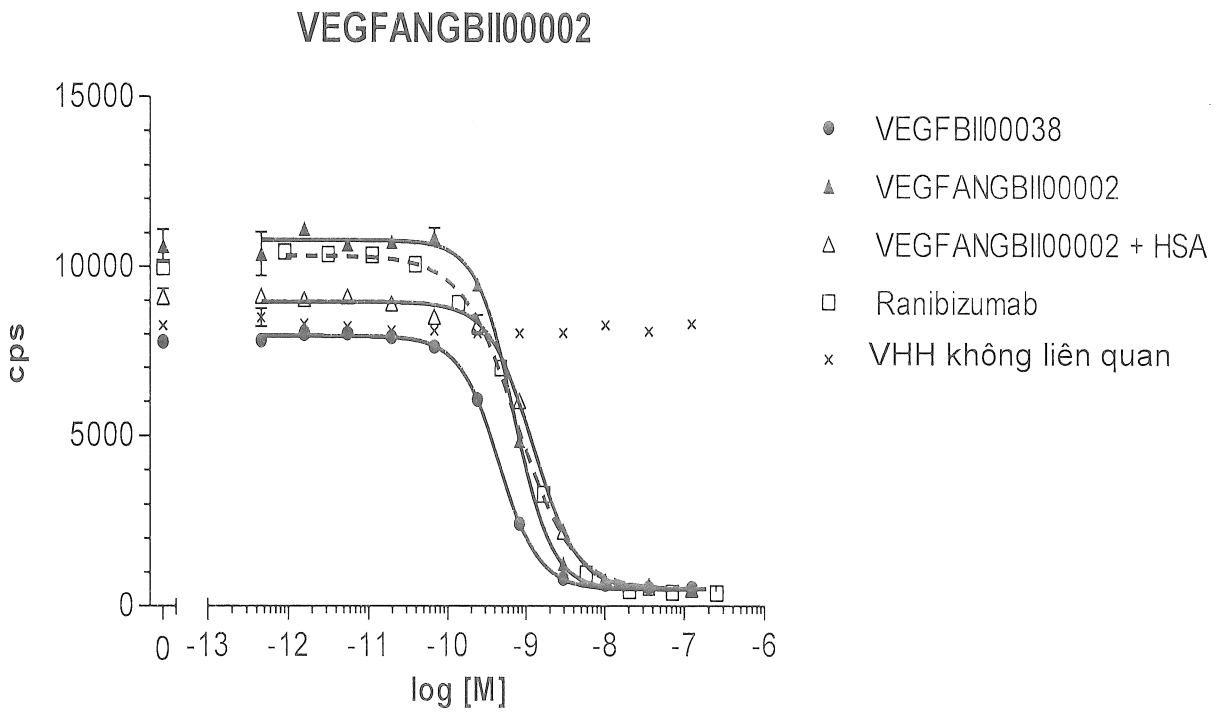

VEGFANGBII00002
15000
10000
5000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00002
VEGFANGBII00002 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.24C

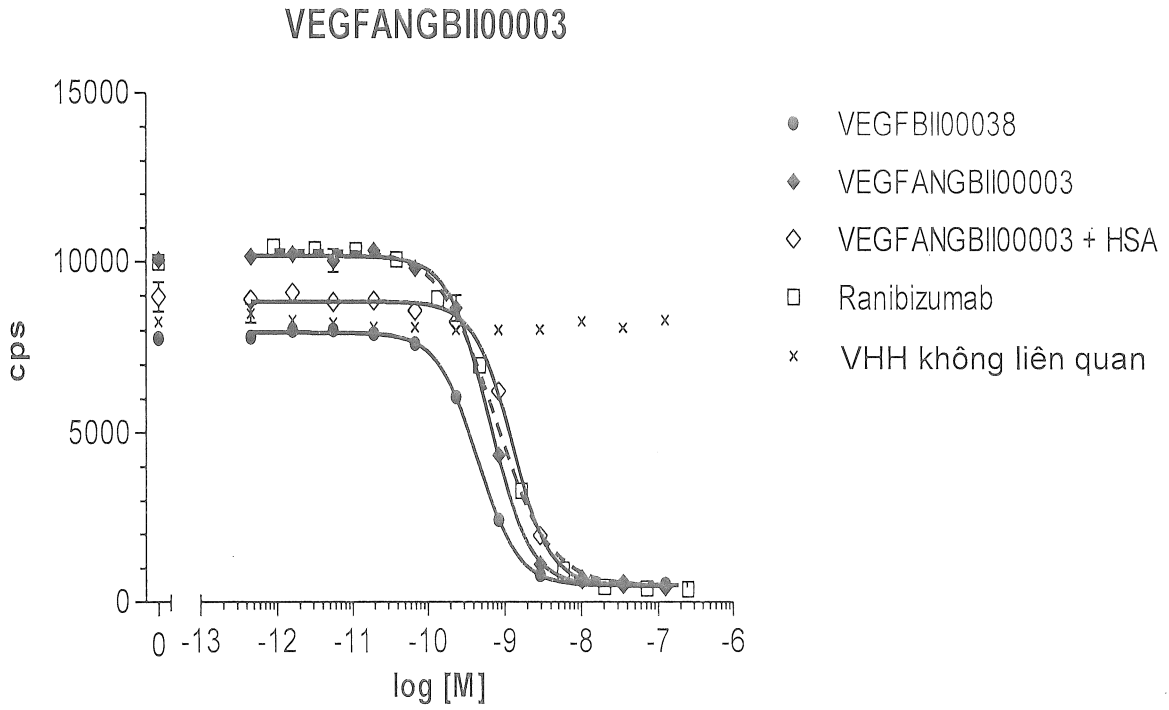

VEGFANGBII00003
15000
10000
5000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00003
VEGFANGBII00003 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.24D

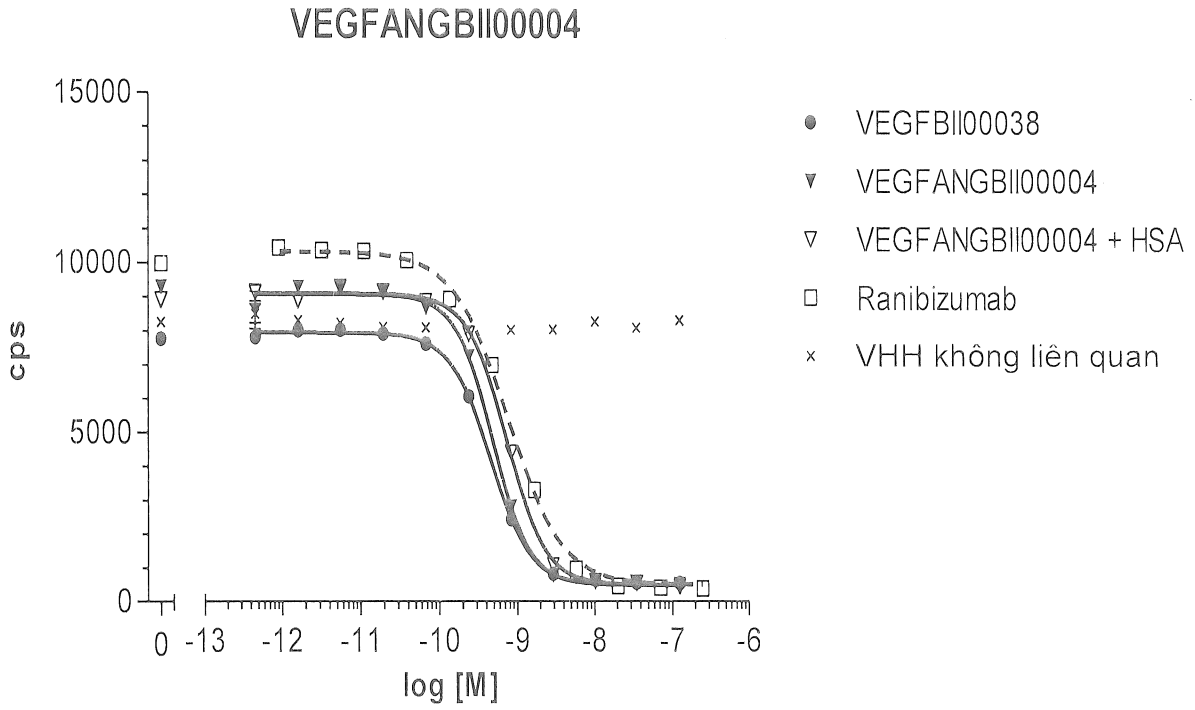

VEGFANGBII00004
15000
10000
5000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00004
VEGFANGBII00004 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.25A

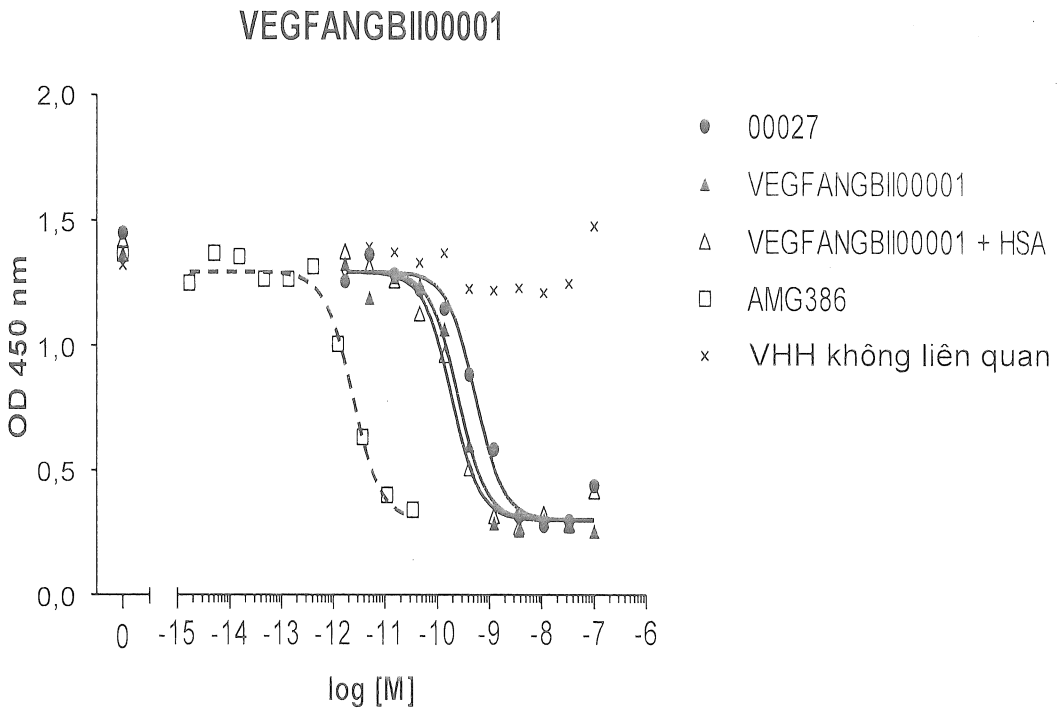

VEGFANGBII00001
OD 450 nm
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00001
VEGFANGBII00001 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.25B

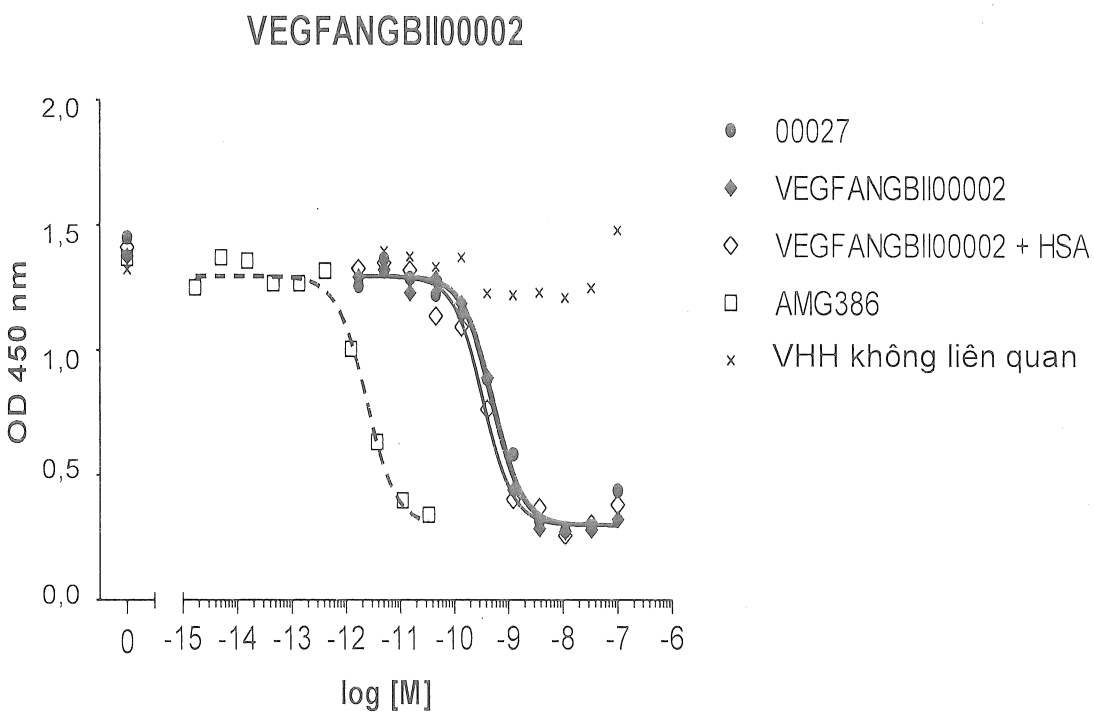

VEGFANGBII00002
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450 nm
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00002
VEGFANGBII00002 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.25C

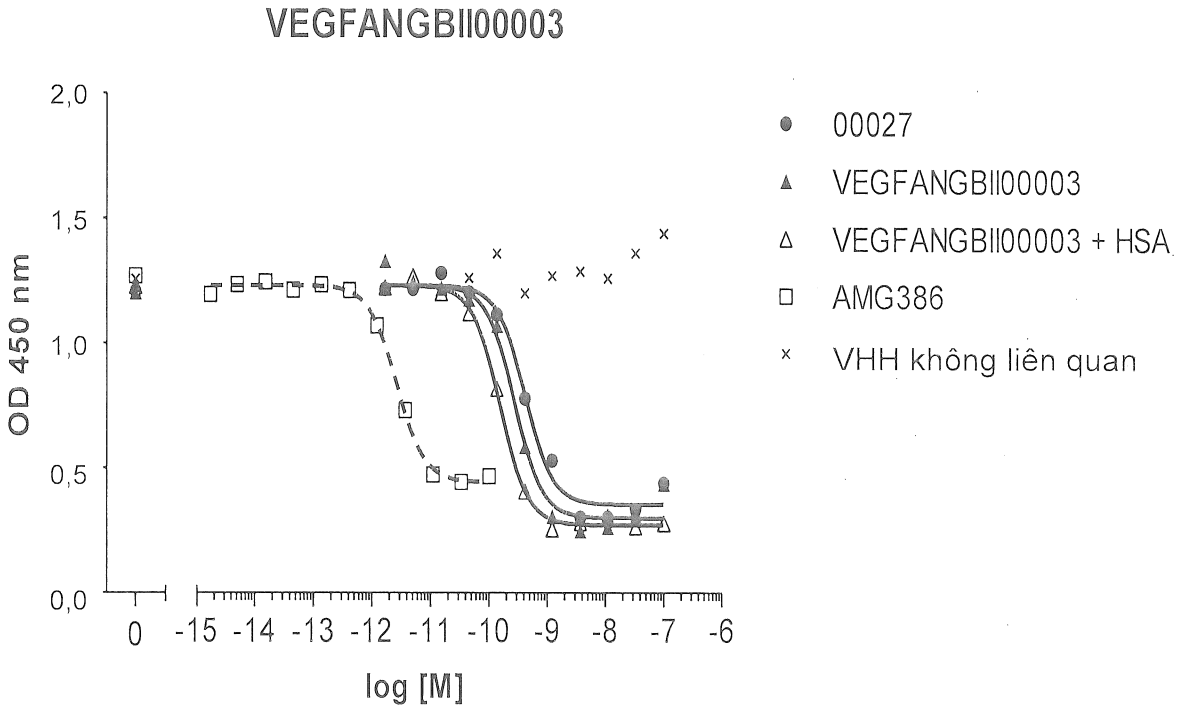
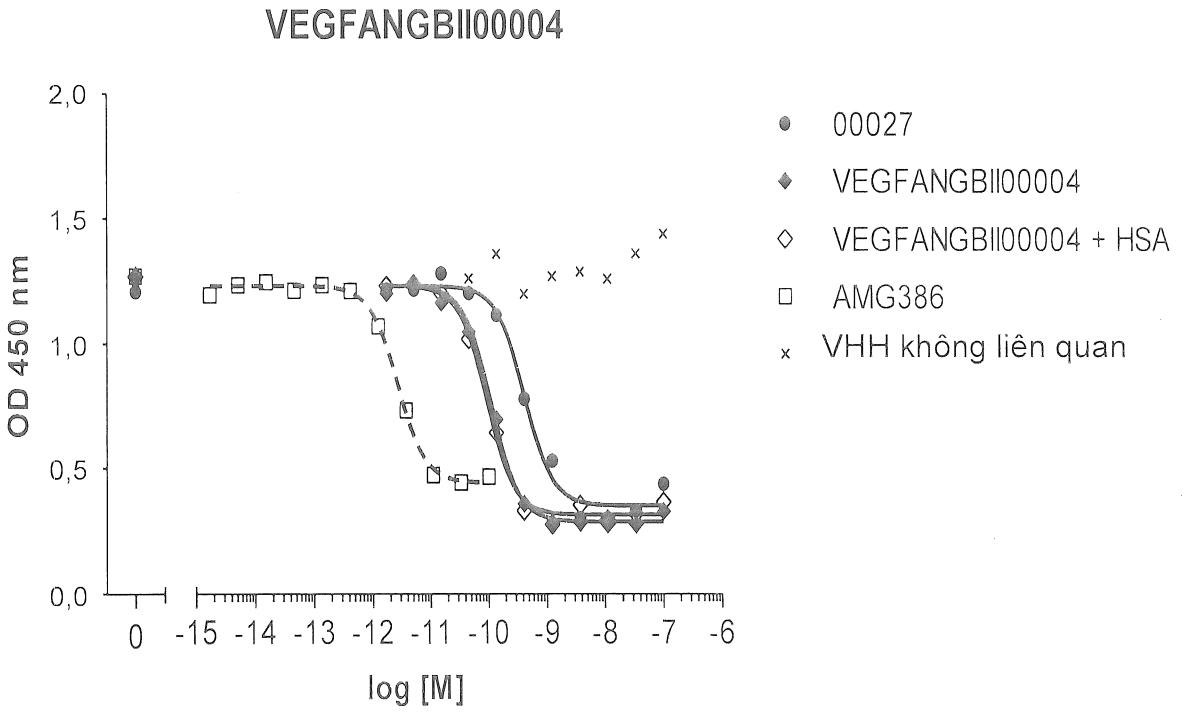
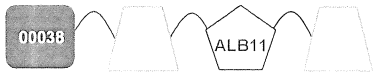
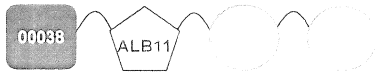
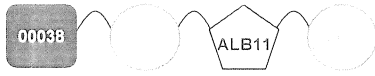
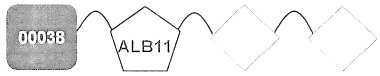
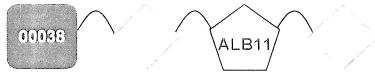

VEGFANGBII00003
OD 450 nm
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00003
VEGFANGBII00003 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.25D


VEGFANGBII00004
OD 450 nm
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
00027
VEGFANGBII00004
VEGFANGBII00004 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

50 / 125

Fig.26

VHH ID	Dạng mẫu	Mô tả
VEGFANGBII00005		VEGFBII00038-9gs-7G08-9gs-ALB11
VEGFANGBII00006		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-7G08
VEGFANGBII00007		VEGFBII00038-9gs-7G08-9gs-ALB11-9gs-7G08
VEGFANGBII00008		VEGFBII00038-9gs-00027-9gs-00027-9gs-ALB11
VEGFANGBII00009		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00027-9gs-00027
VEGFANGBII00010		VEGFBII00038-9gs-00027-9gs-ALB11-9gs-00027
VEGFANGBII00011		VEGFBII00038-9gs-1D01-9gs-1D01-9gs-ALB11
VEGFANGBII00012		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-1D01-9gs-1D01
VEGFANGBII00013		VEGFBII00038-9gs-1D01-9gs-ALB11-9gs-1D01
VEGFANGBII00014		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-1D01

Ghi chú:

	Mô tả		Mô tả
	VEGFBII00038		ALB11
	00027	AAA	*Cầu liên kết bậc ba Ala*
	1D01		*Cầu liên kết 9 GlySer*
	7G08		

Fig.27-1A

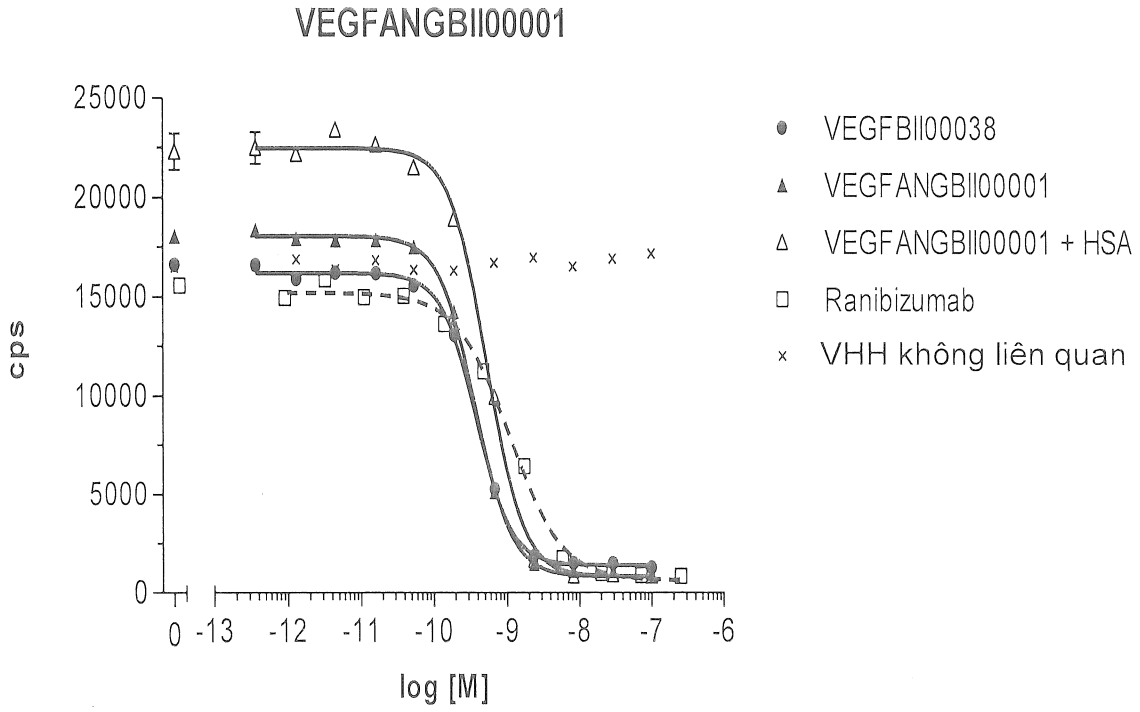

VEGFANGBII00001
25000
20000
15000
10000
5000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00001
VEGFANGBII00001 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.27-1B

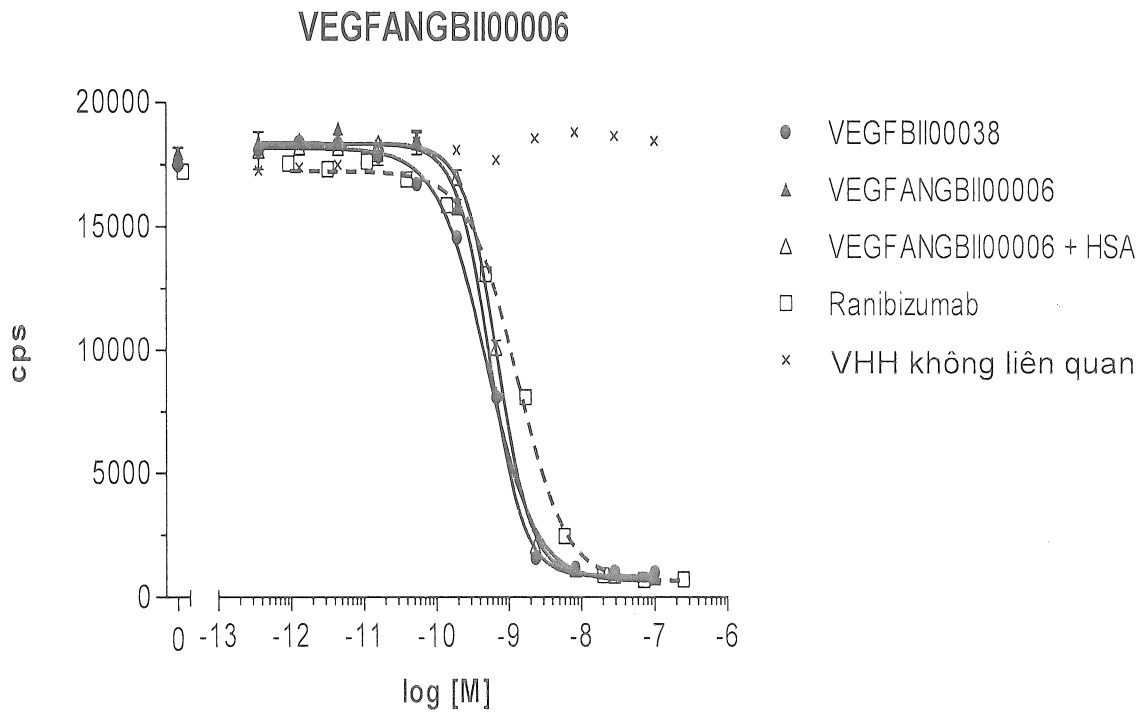

VEGFANGBII00006
20000
15000
10000
5000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00006
VEGFANGBII00006 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.27-1C

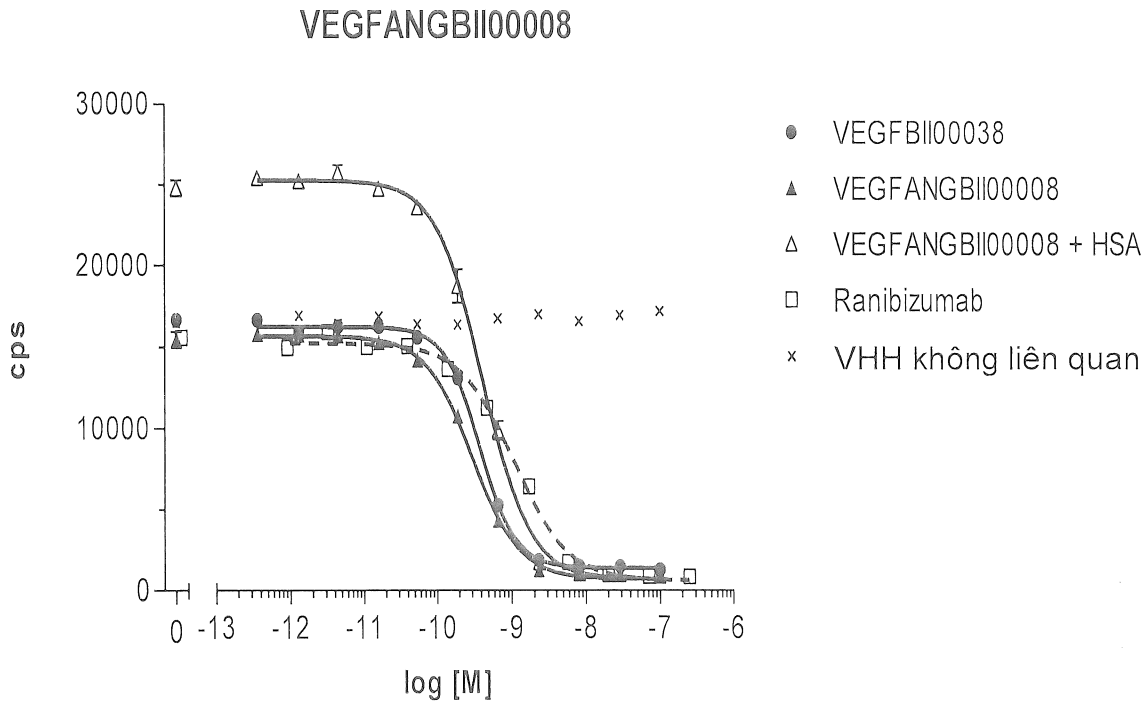

VEGFANGBII00008
30000
20000
10000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00008
VEGFANGBII00008 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.27-1D

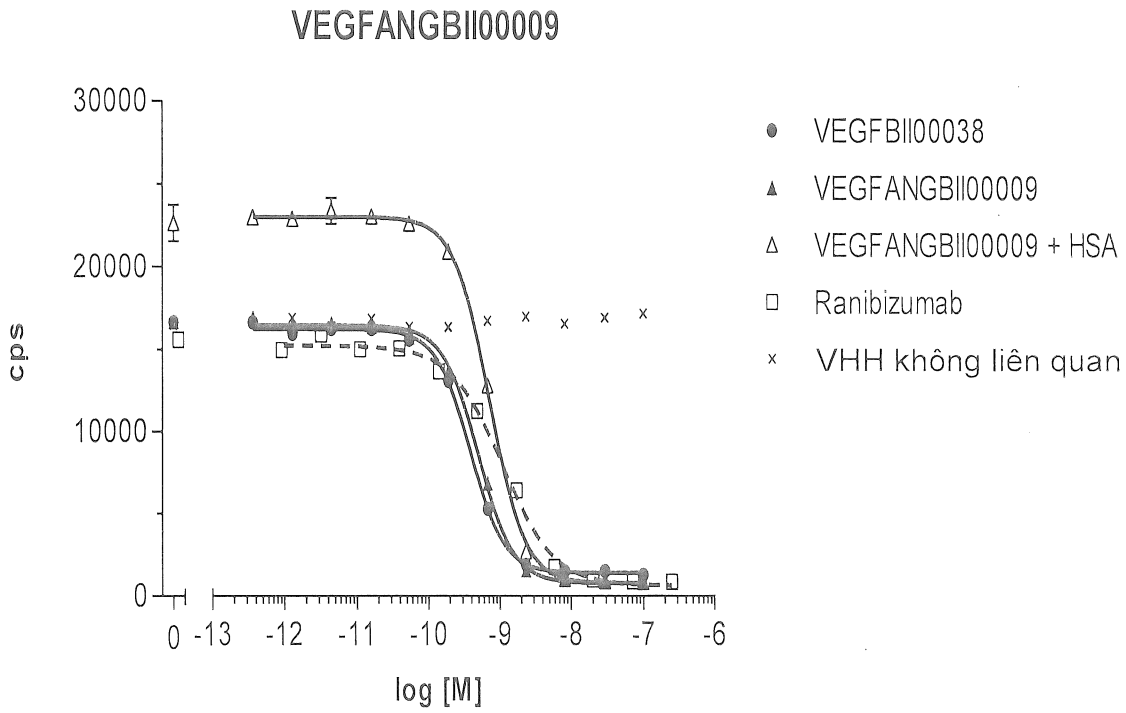

VEGFANGBII00009
30000
20000
10000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00009
VEGFANGBII00009 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.27-1E

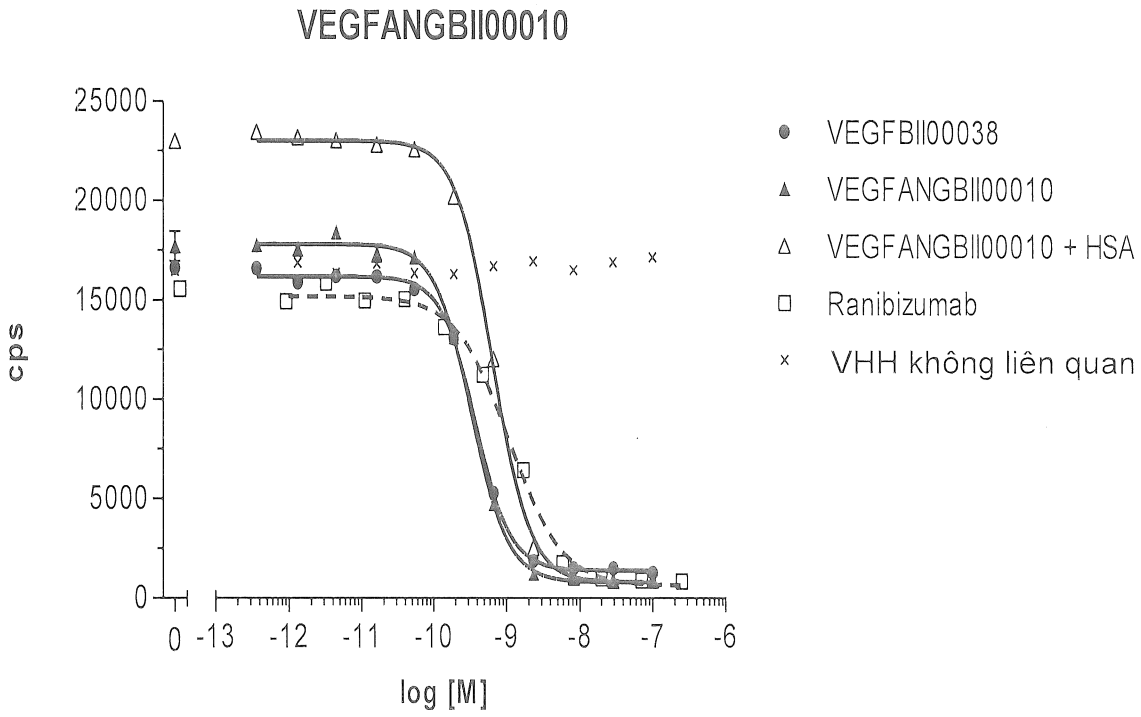

VEGFANGBII00010
cps
25000
20000
15000
10000
5000
0
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00010
VEGFANGBII00010 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.27-1F

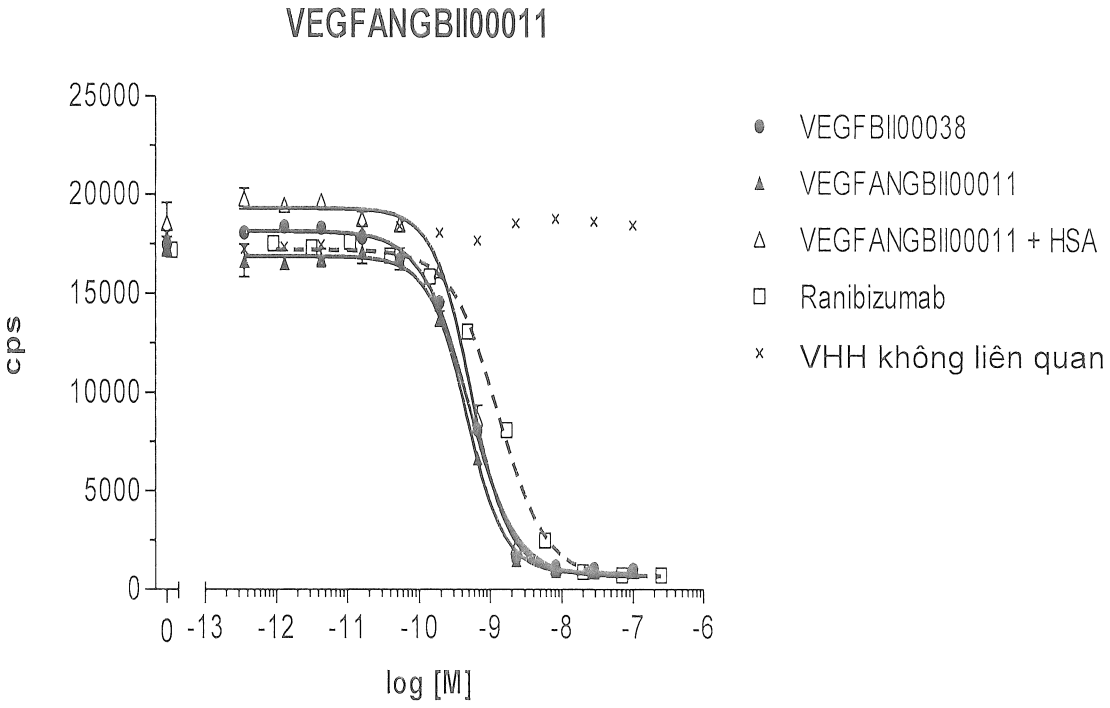

VEGFANGBII00011
cps
25000
20000
15000
10000
5000
0
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00011
VEGFANGBII00011 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.27-1G

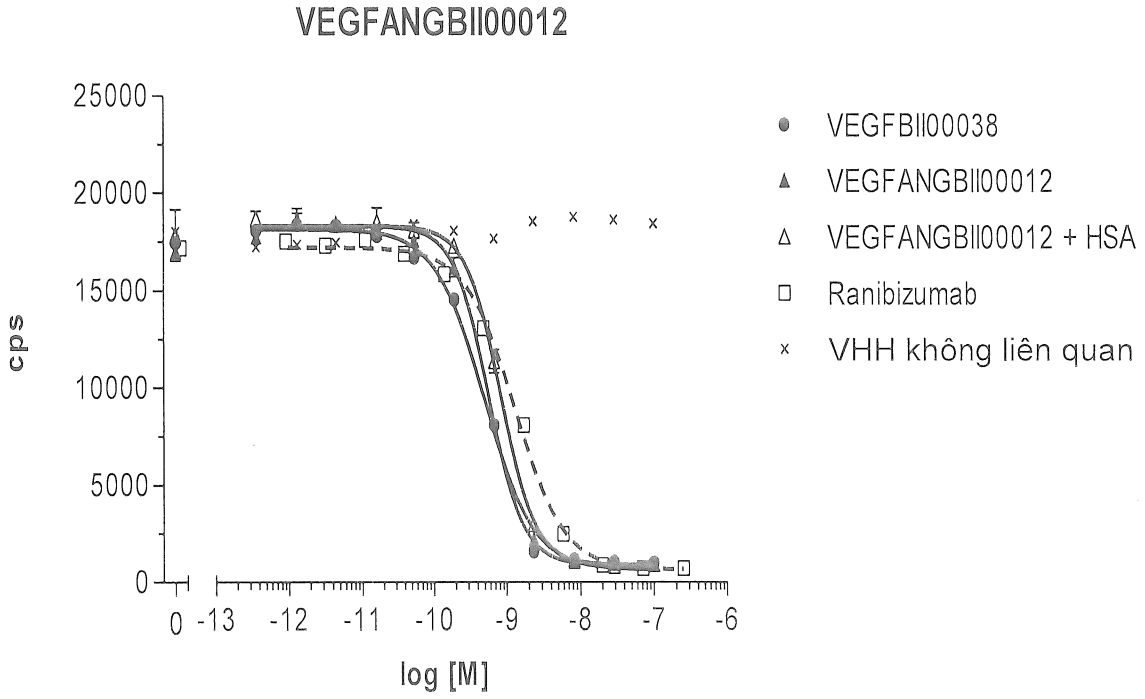

VEGFANGBII00012
25000
20000
15000
10000
5000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00012
VEGFANGBII00012 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.27-1H

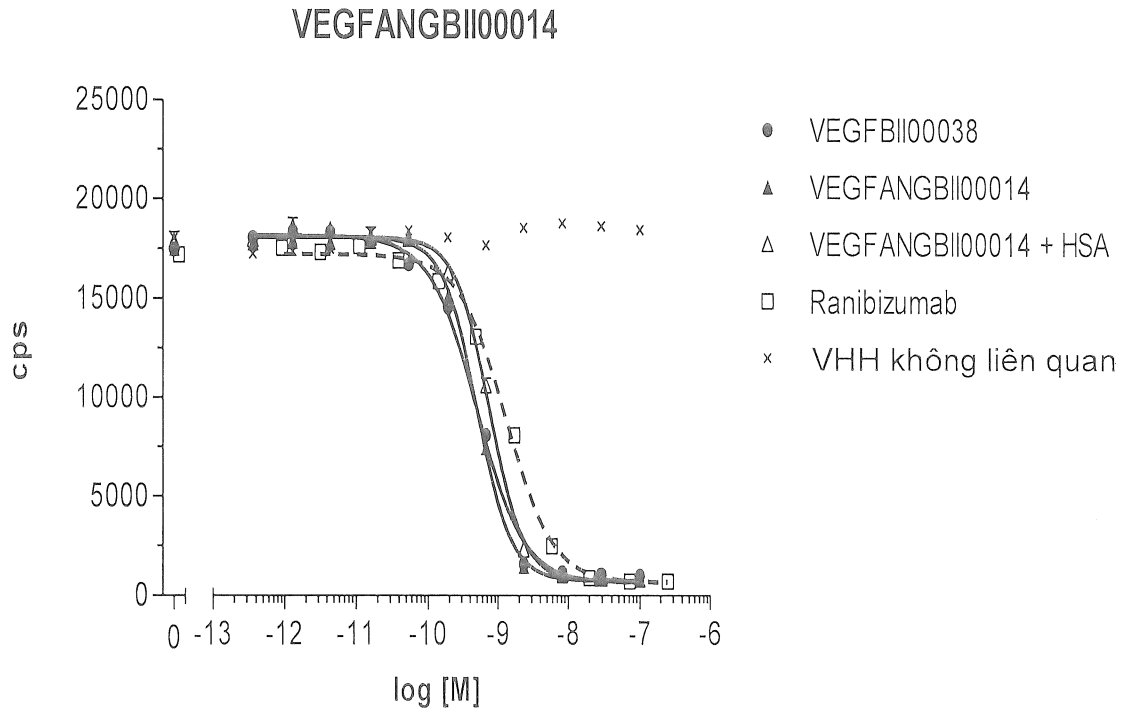
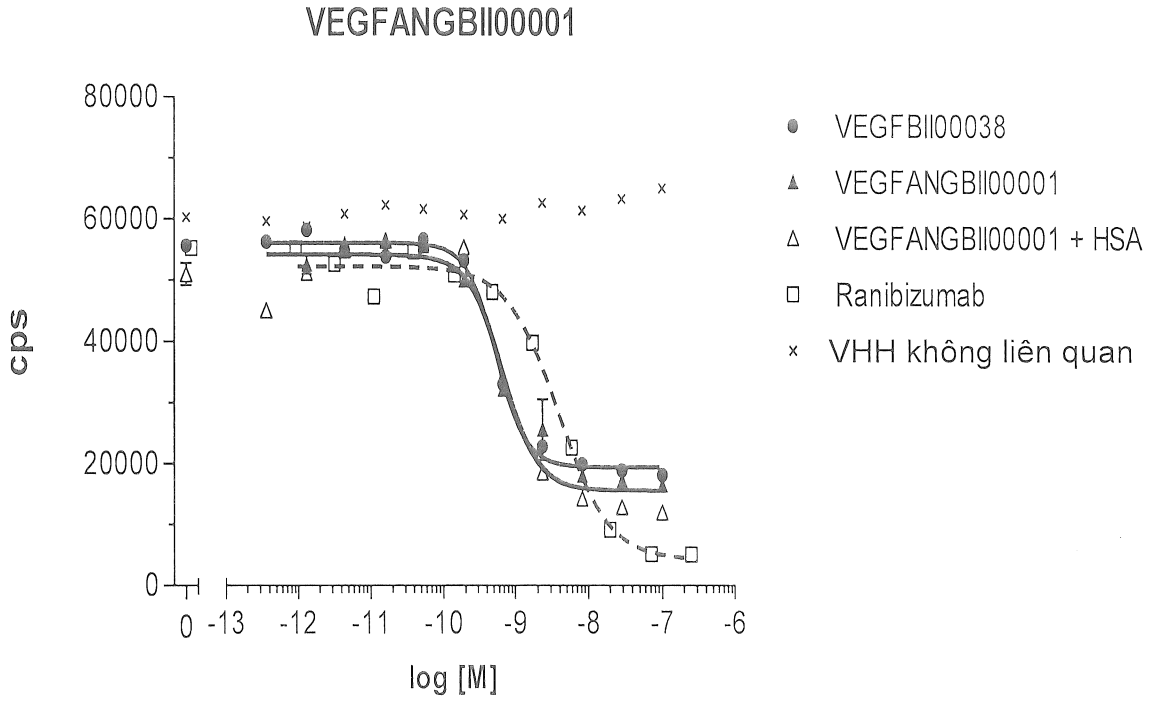

VEGFANGBII00014
25000
20000
15000
10000
5000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00014
VEGFANGBII00014 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.27-2A


VEGFANGBII00001
cps
80000
60000
40000
20000
0
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00001
VEGFANGBII00001 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

60 / 125

Fig.27-2B

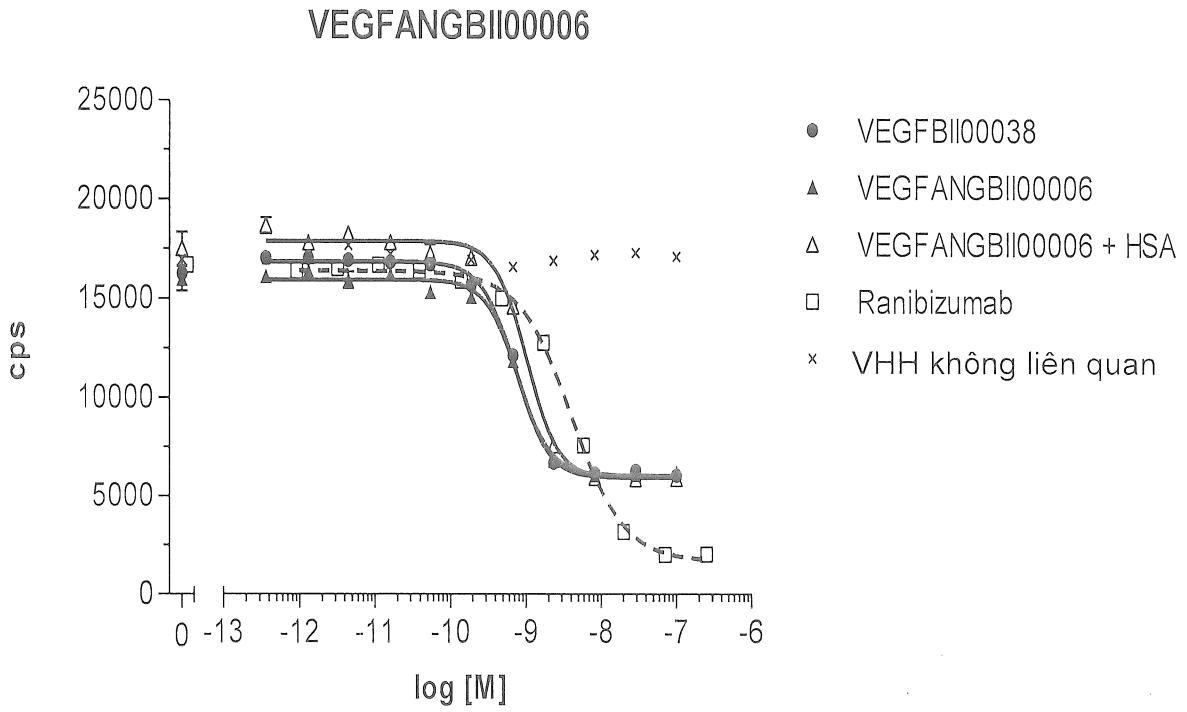


Fig.27-2C

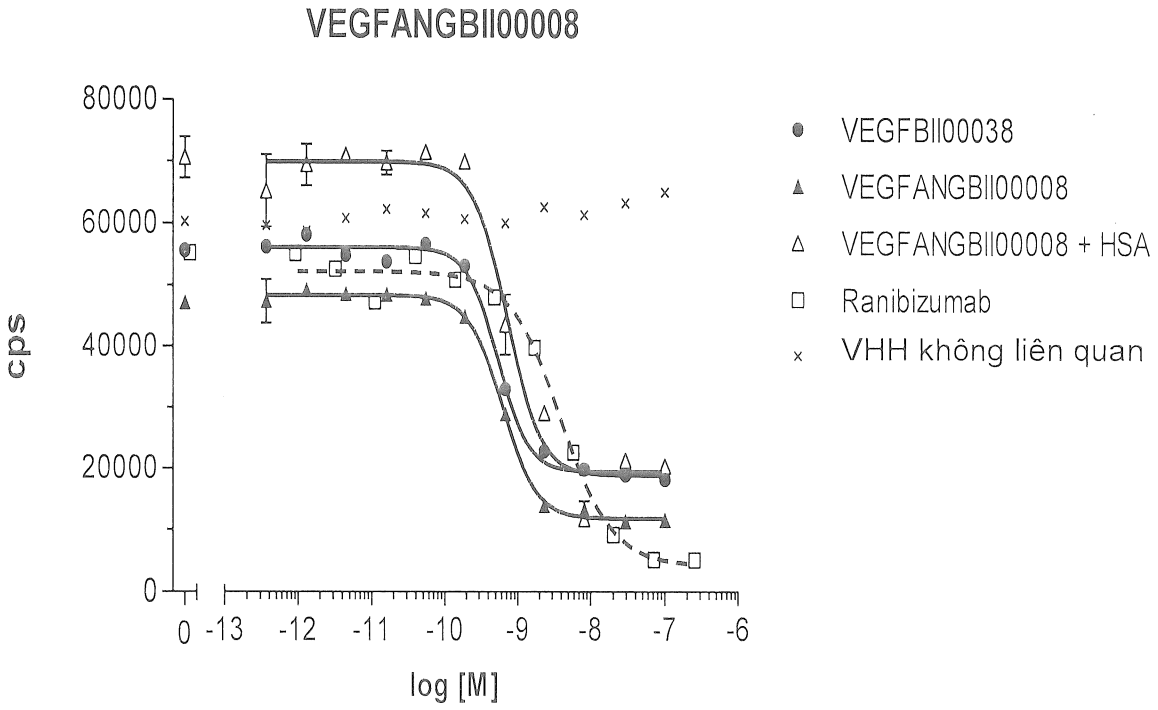

VEGFANGBII00008
80000
60000
40000
20000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00008
VEGFANGBII00008 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.27-2D

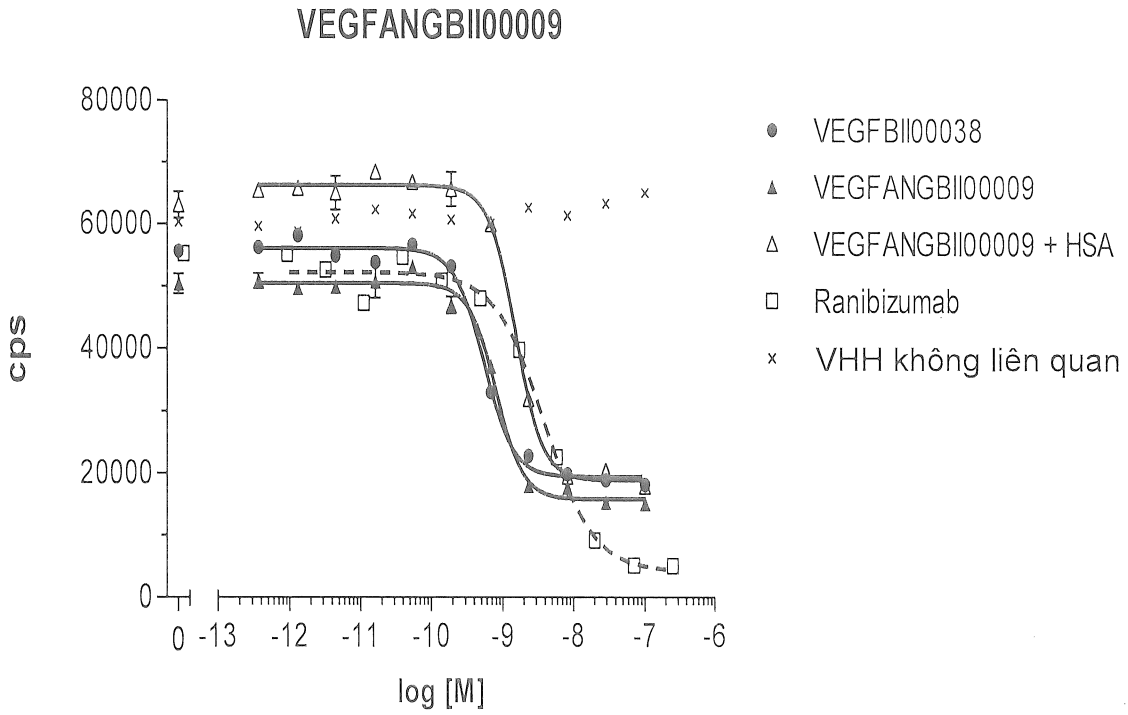
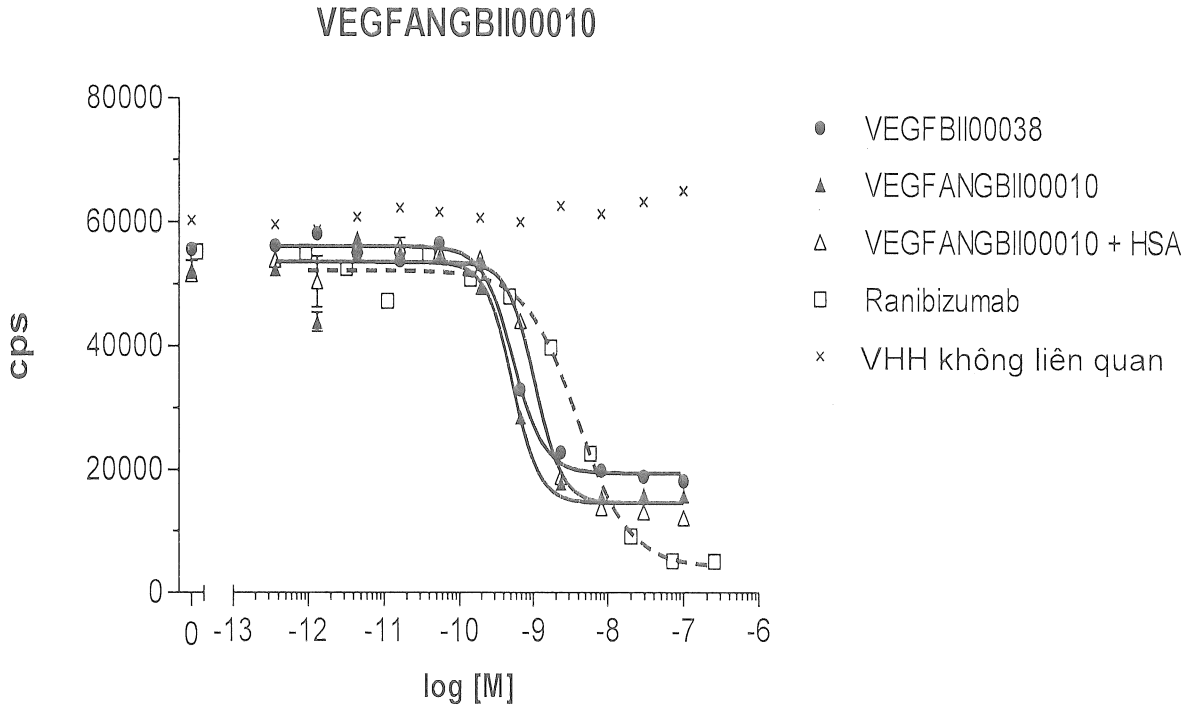
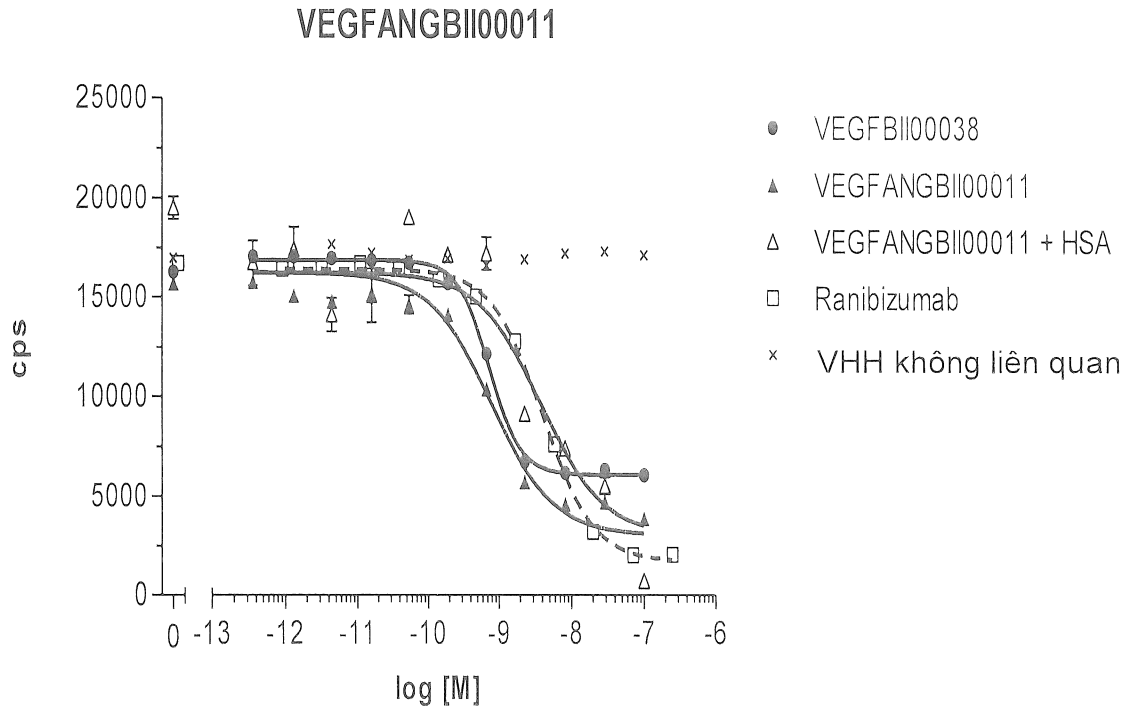

VEGFANGBII00009
80000
60000
40000
20000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00009
VEGFANGBII00009 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.27-2E


VEGFANGBII00010
80000
60000
40000
20000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00010
VEGFANGBII00010 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

64 / 125

Fig.27-2F



65 / 125

Fig.27-2G

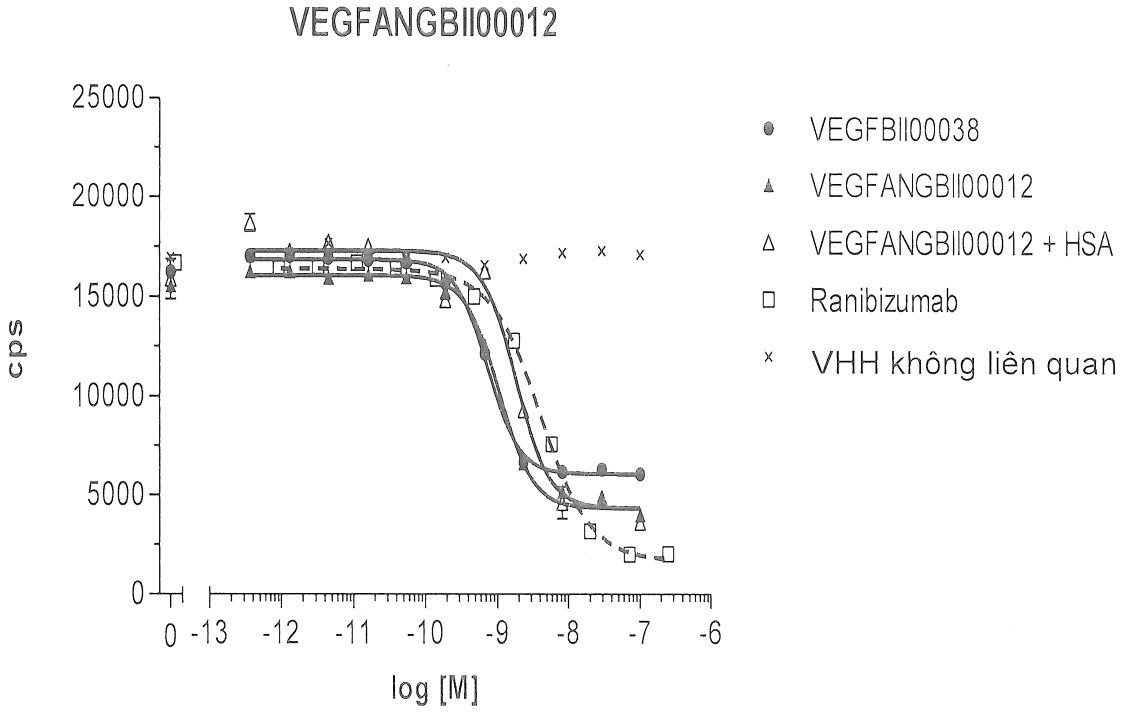


Fig.27-2H

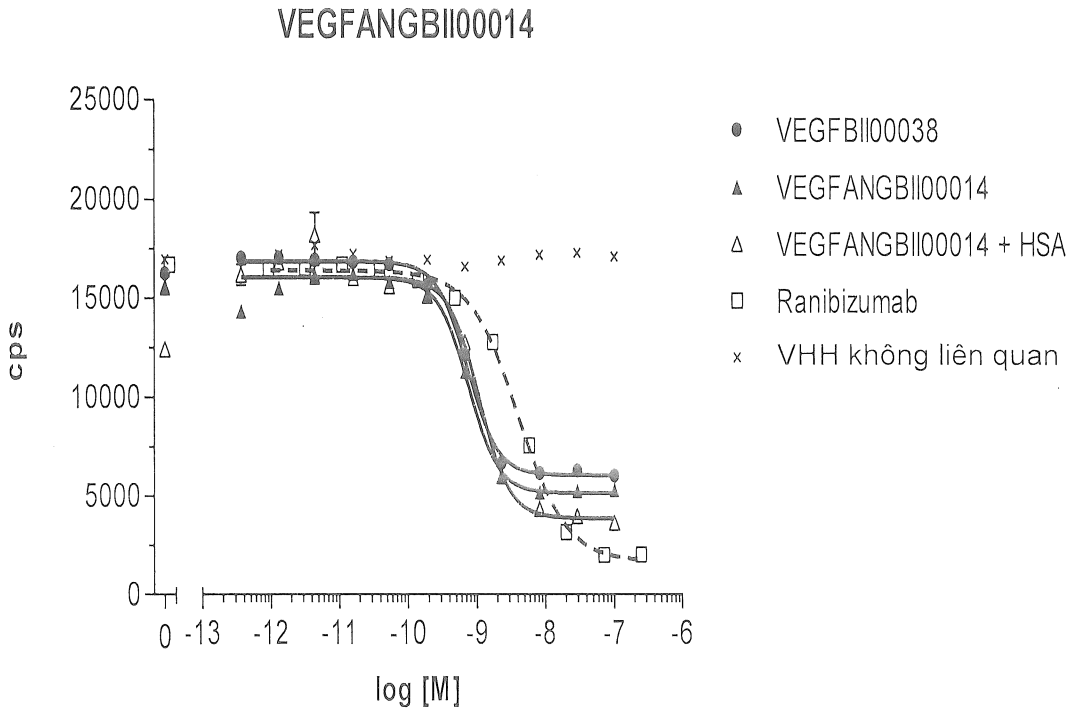

VEGFANGBII00014
25000
20000
15000
10000
5000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00014
VEGFANGBII00014 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.28-1A

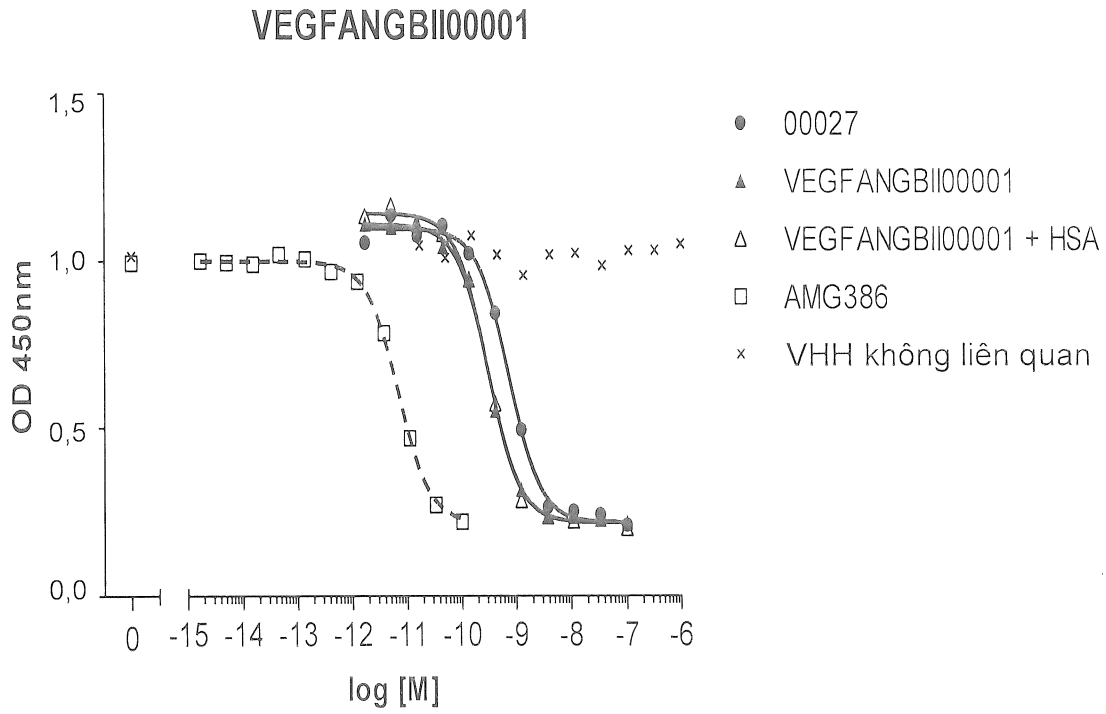

VEGFANGBII00001
OD 450nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00001
VEGFANGBII00001 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-1B

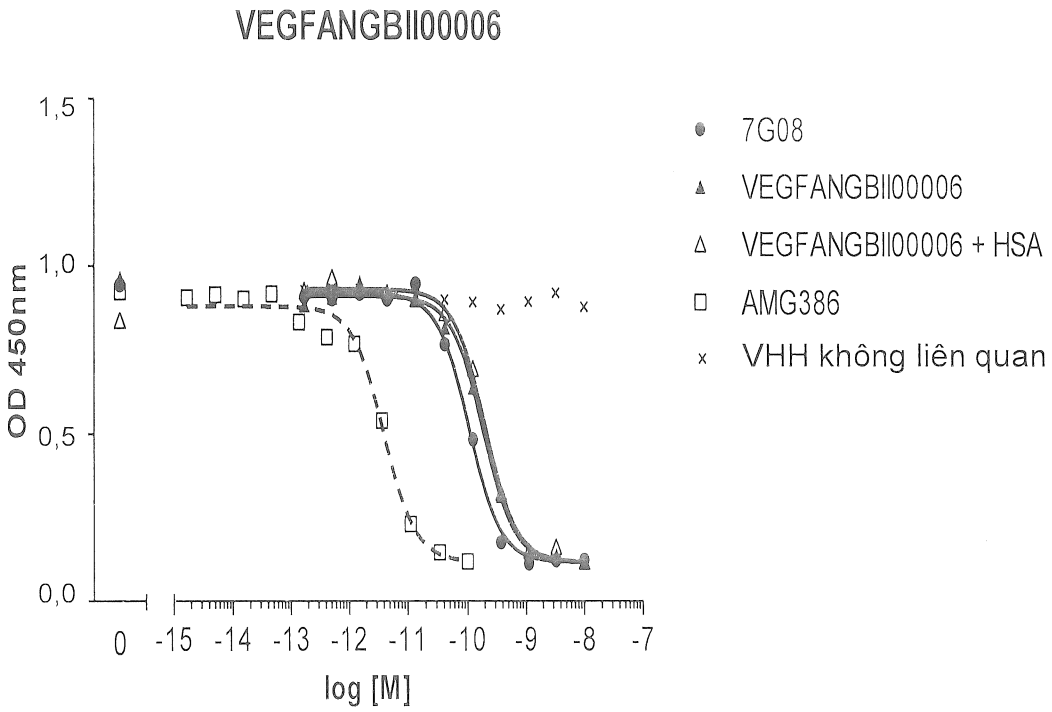

VEGFANGBII00006
1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450nm
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
log [M]
7G08
VEGFANGBII00006
VEGFANGBII00006 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-1C

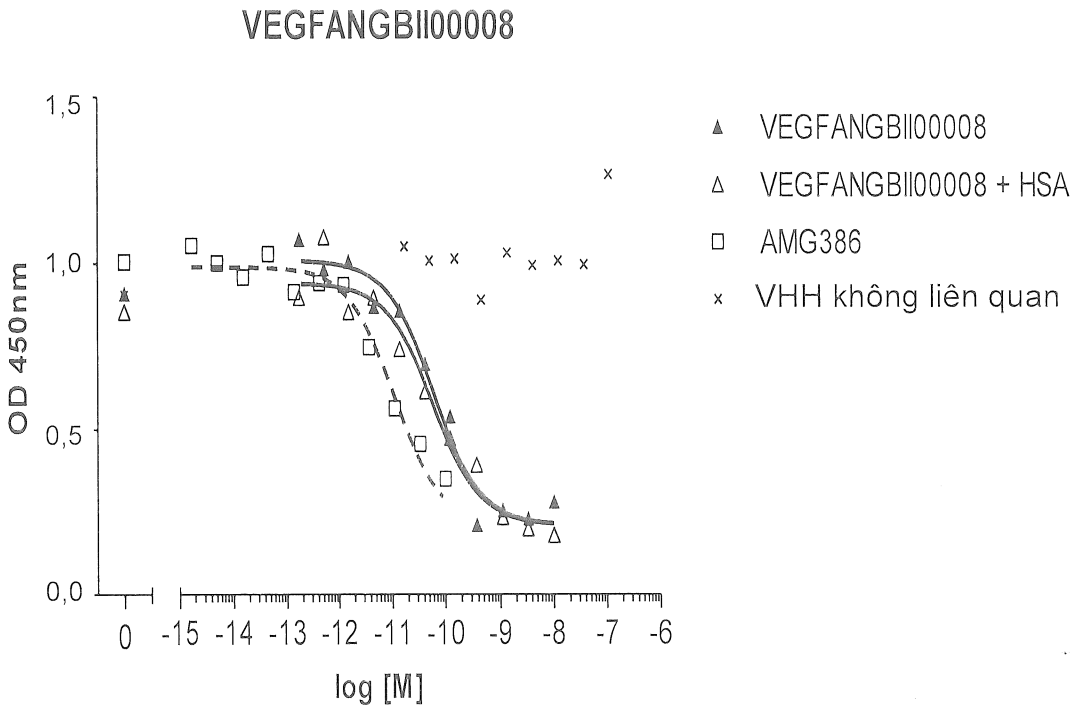

VEGFANGBII00008
OD 450nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
VEGFANGBII00008
VEGFANGBII00008 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-1D

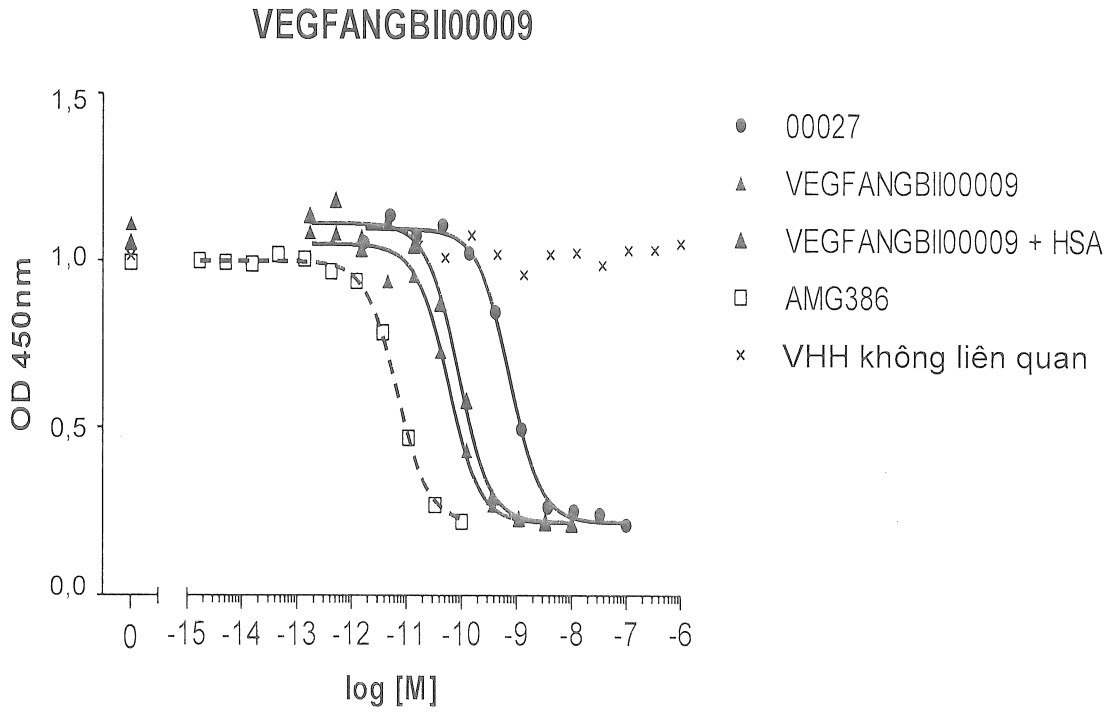

VEGFANGBII00009
1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450nm
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00009
VEGFANGBII00009 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-1E

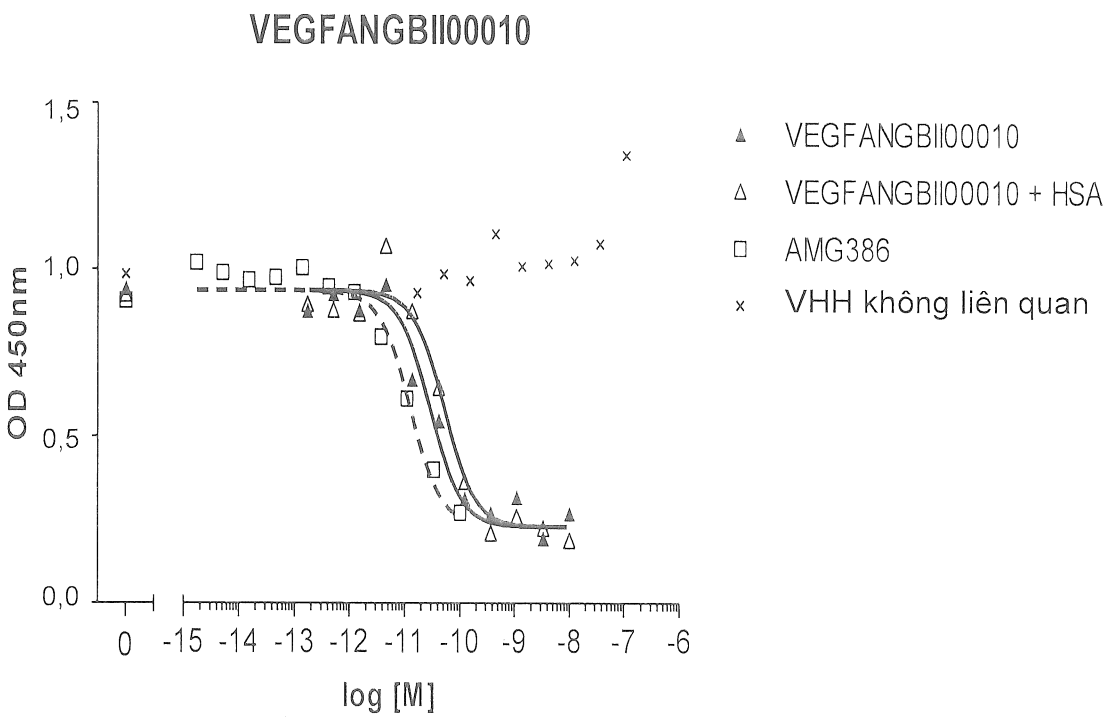

VEGFANGBII00010
OD 450nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
VEGFANGBII00010
VEGFANGBII00010 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-1F

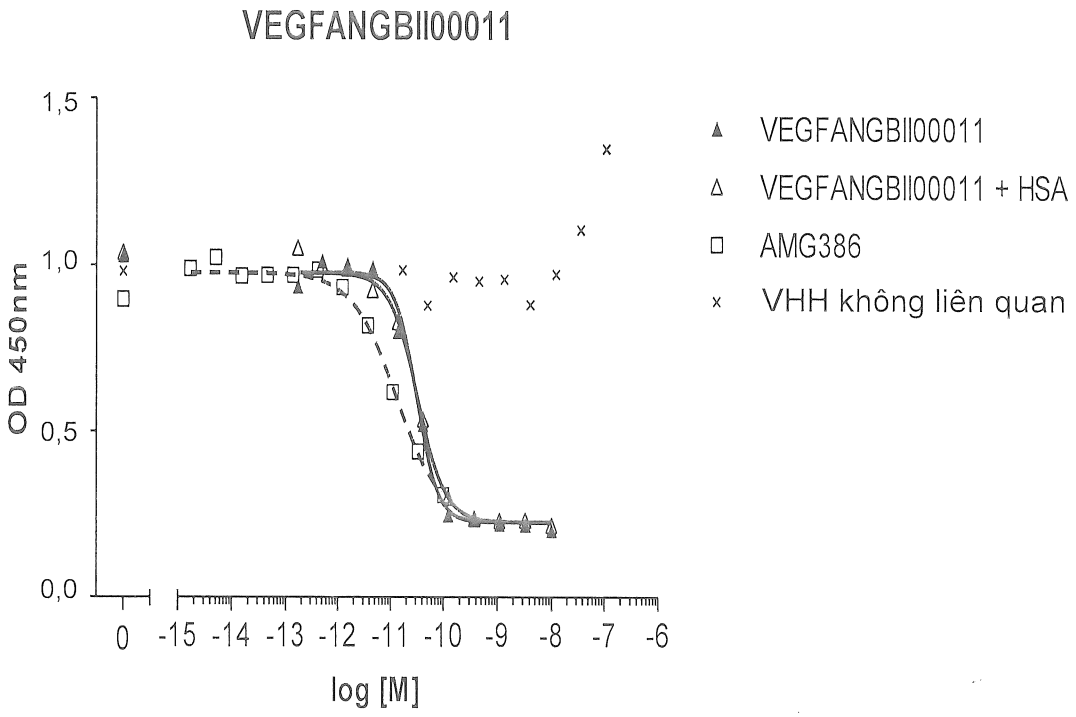

VEGFANGBII00011
OD 450nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
VEGFANGBII00011
VEGFANGBII00011 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-1G

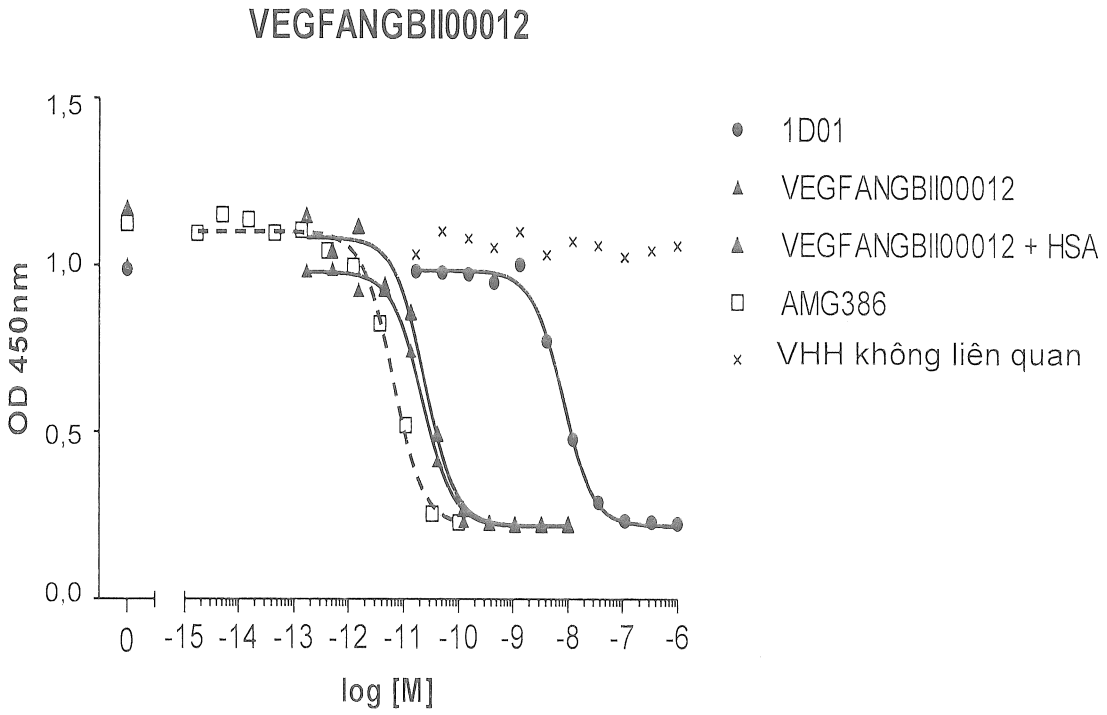

VEGFANGBII00012
OD 450nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
1D01
VEGFANGBII00012
VEGFANGBII00012 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-1H

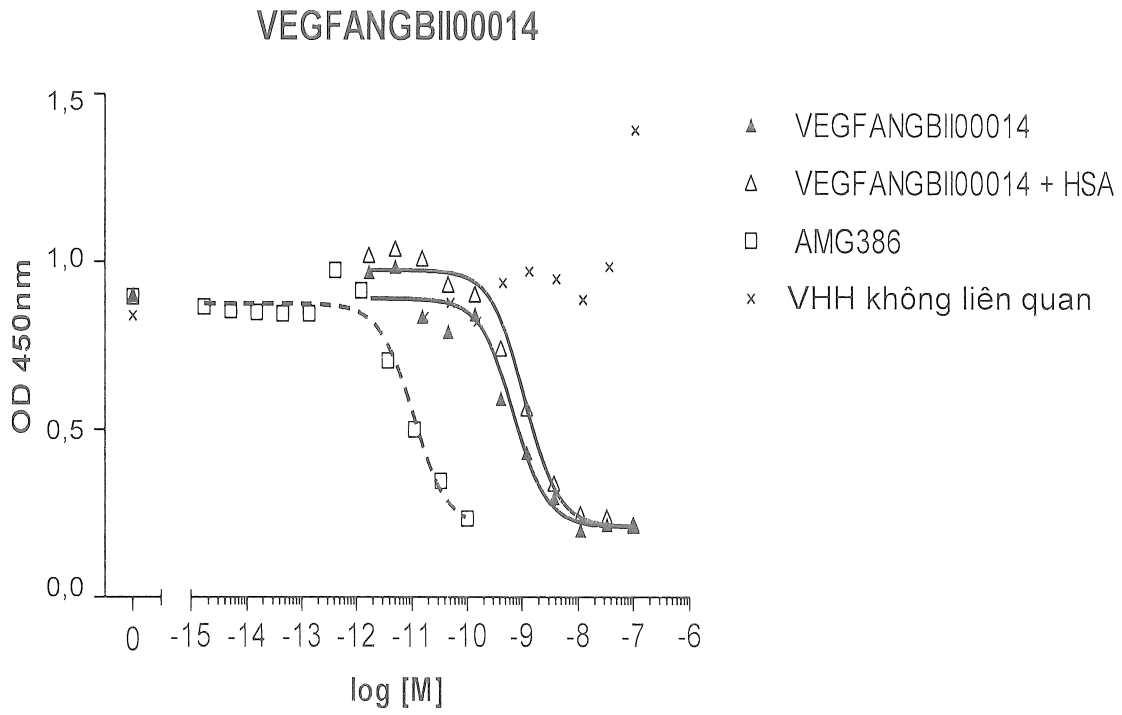

VEGFANGBII00014
1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450nm
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
VEGFANGBII00014
VEGFANGBII00014 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-2A

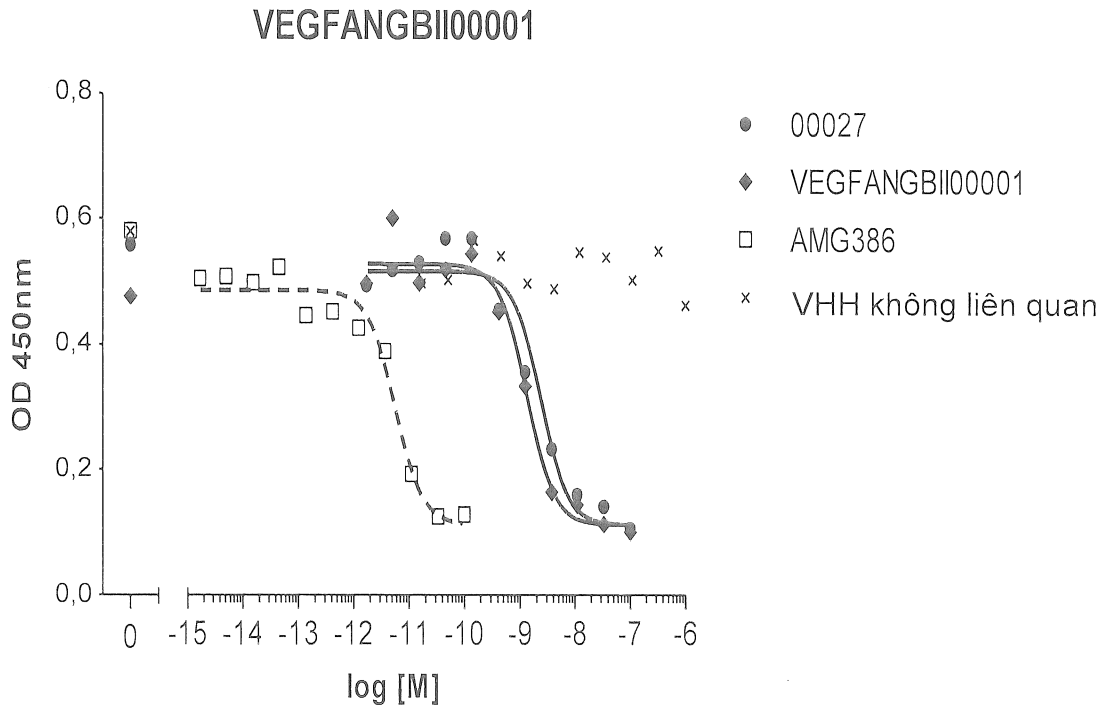
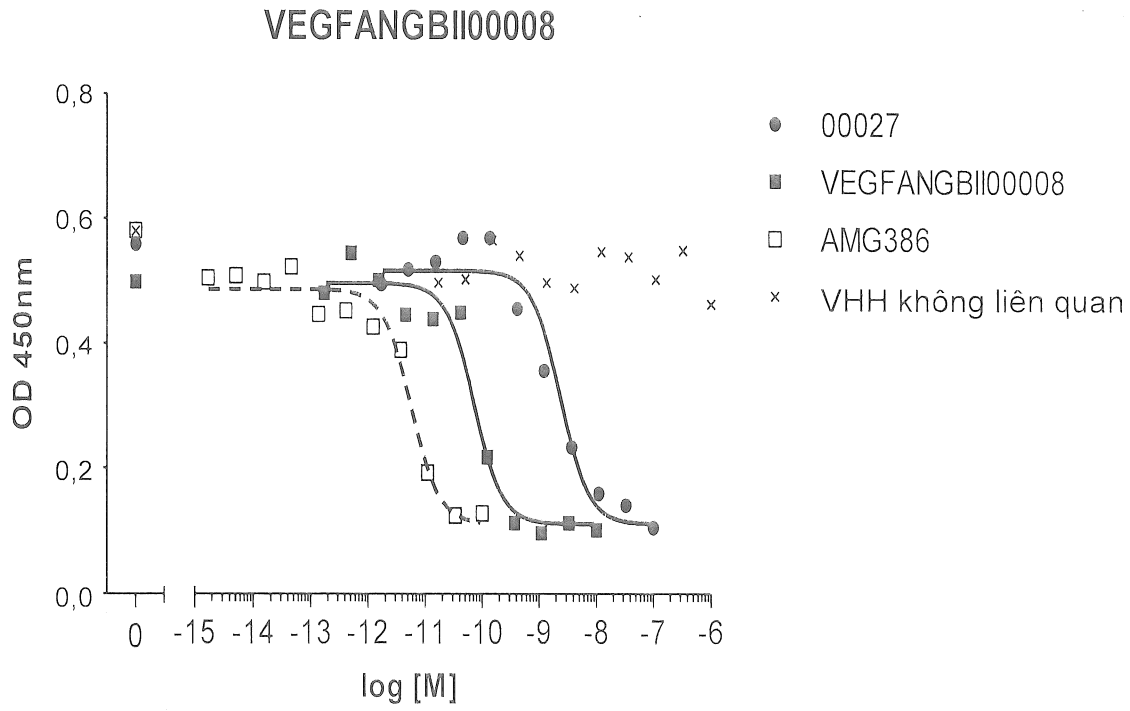

VEGFANGBII00001
OD 450nm
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00001
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-2B


VEGFANGBII00008
OD 450nm
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00008
AMG386
VHH không liên quan

77 / 125

Fig.28-2C

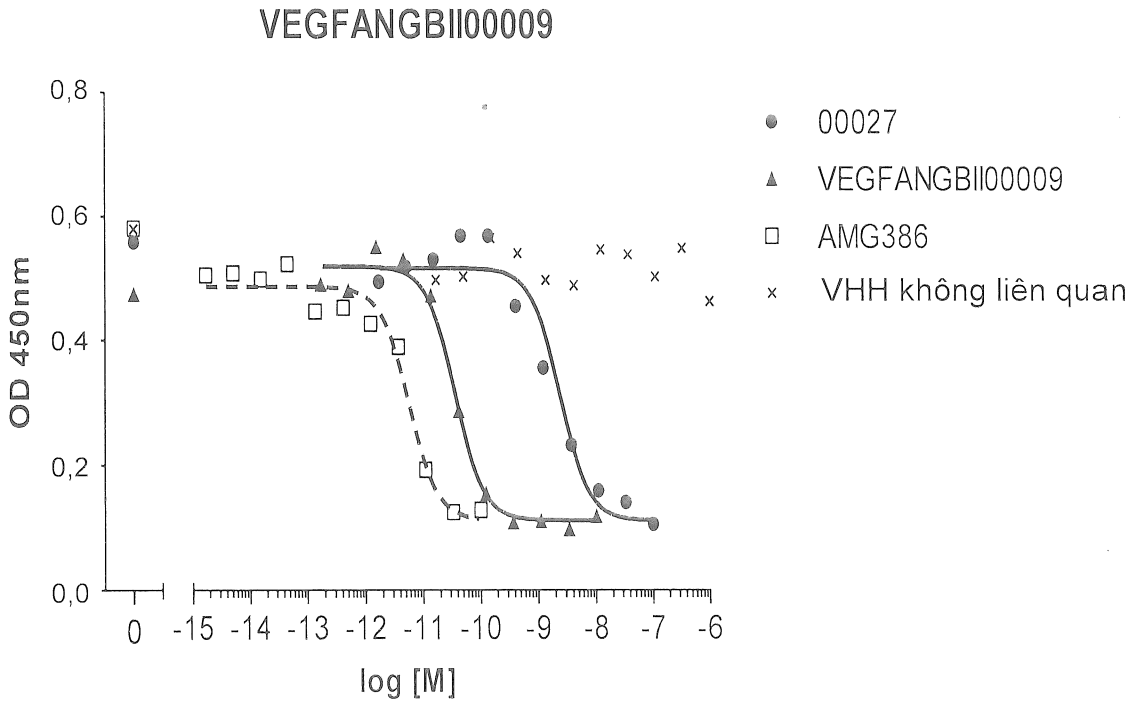


Fig.28-2D

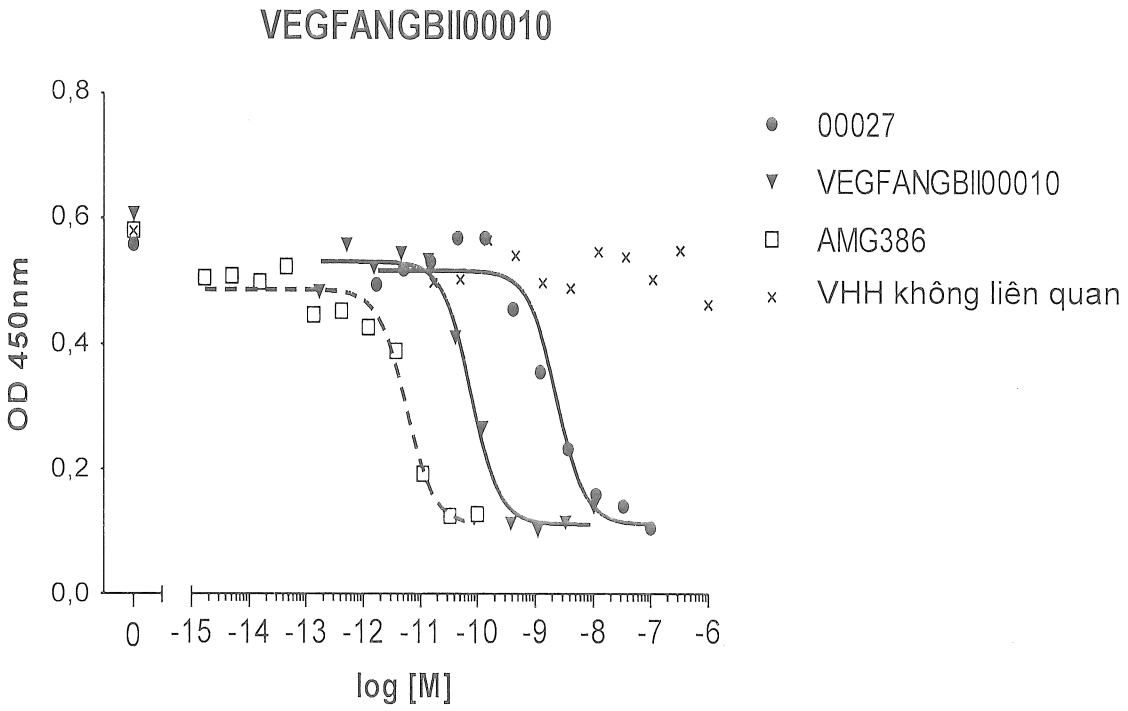

VEGFANGBII00010
OD 450nm
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00010
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-2E

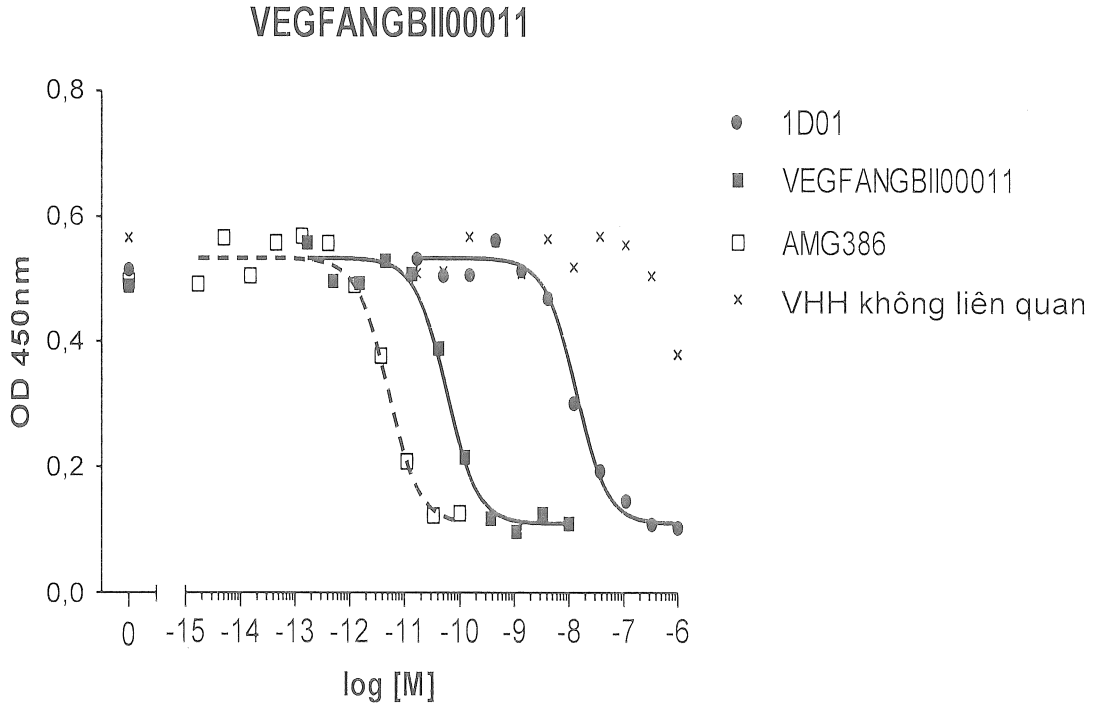

VEGFANGBII00011
OD 450nm
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
1D01
VEGFANGBII00011
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-2F

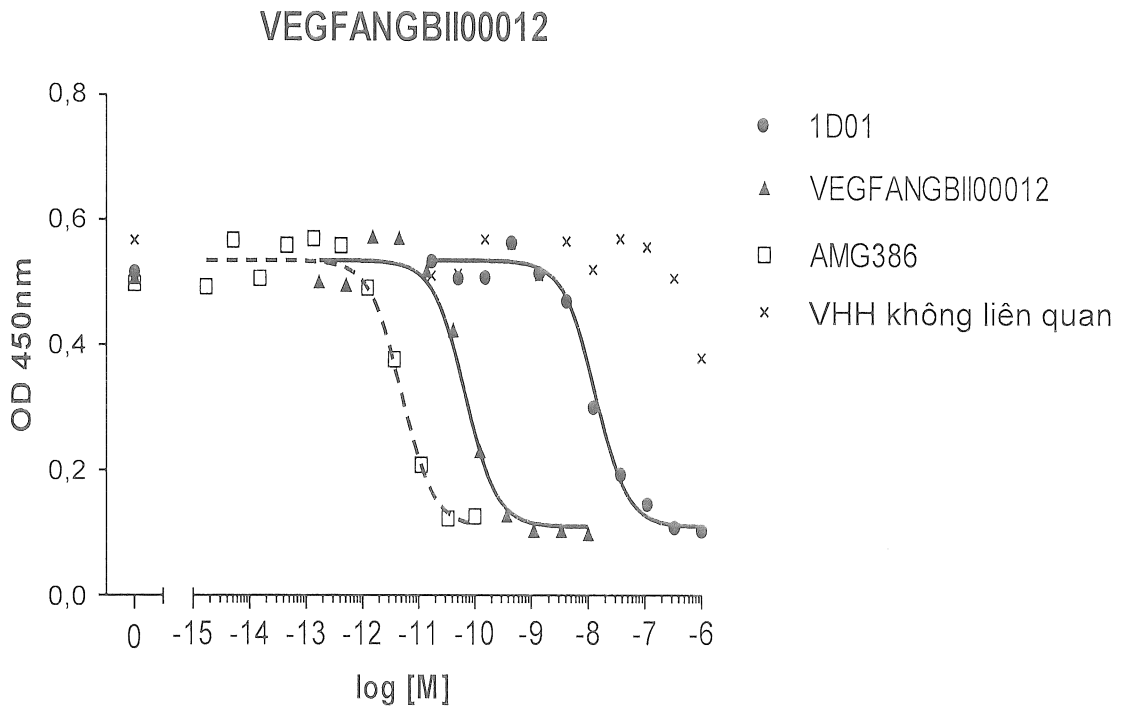

VEGFANGBII00012
OD 450nm
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
1D01
VEGFANGBII00012
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-2G

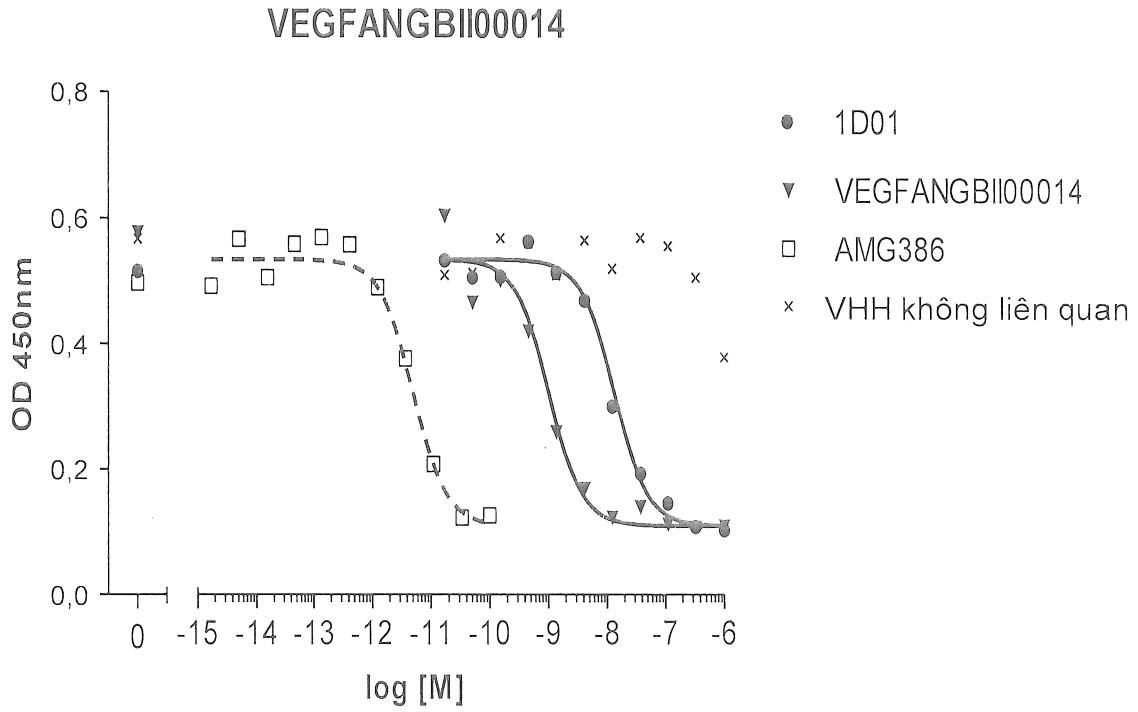

VEGFANGBII00014
OD 450nm
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
1D01
VEGFANGBII00014
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-3A

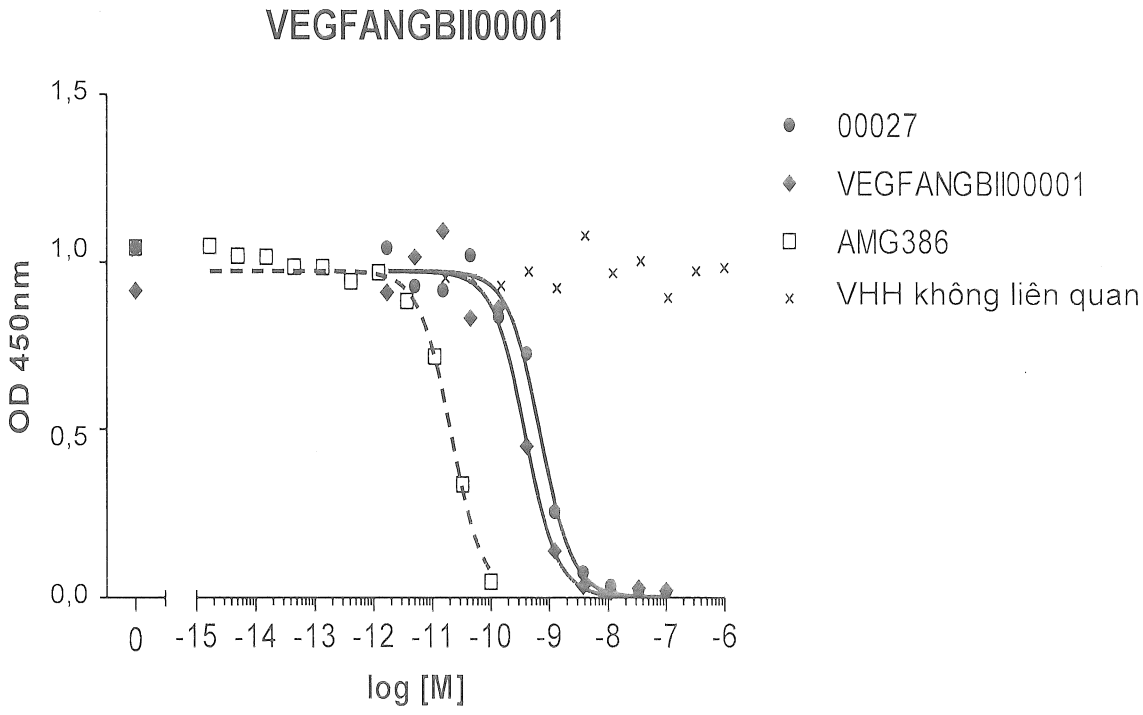

VEGFANGBII00001
OD 450nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00001
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-3B

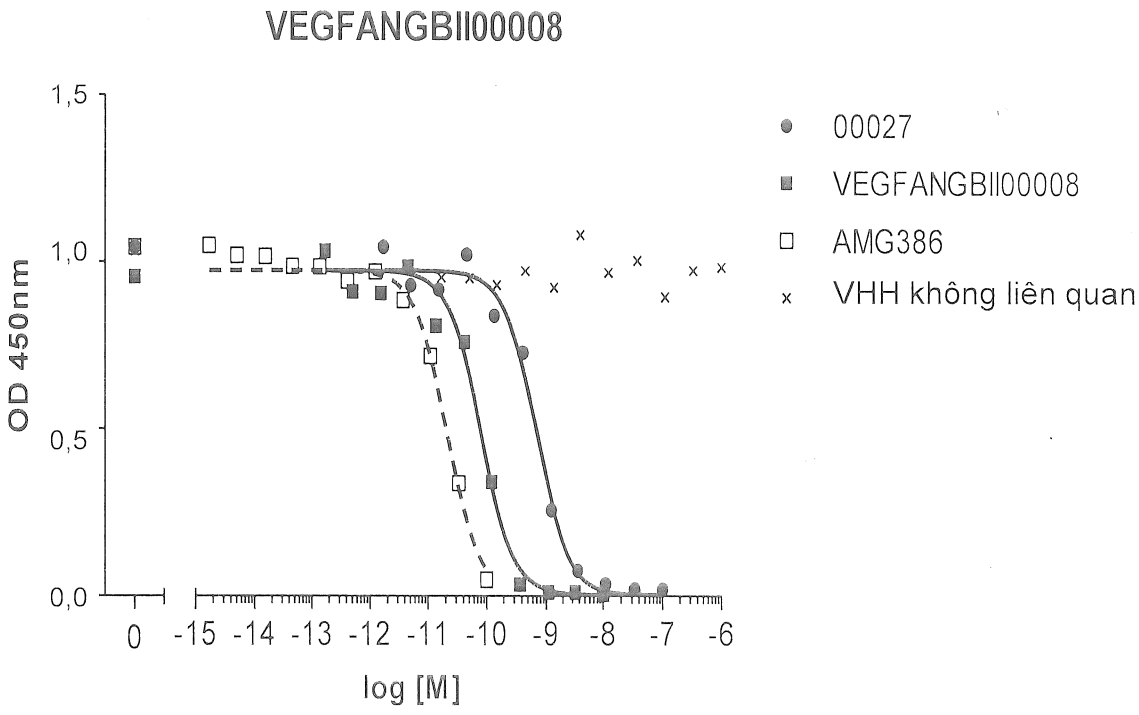

VEGFANGBII00008
OD 450nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00008
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-3C

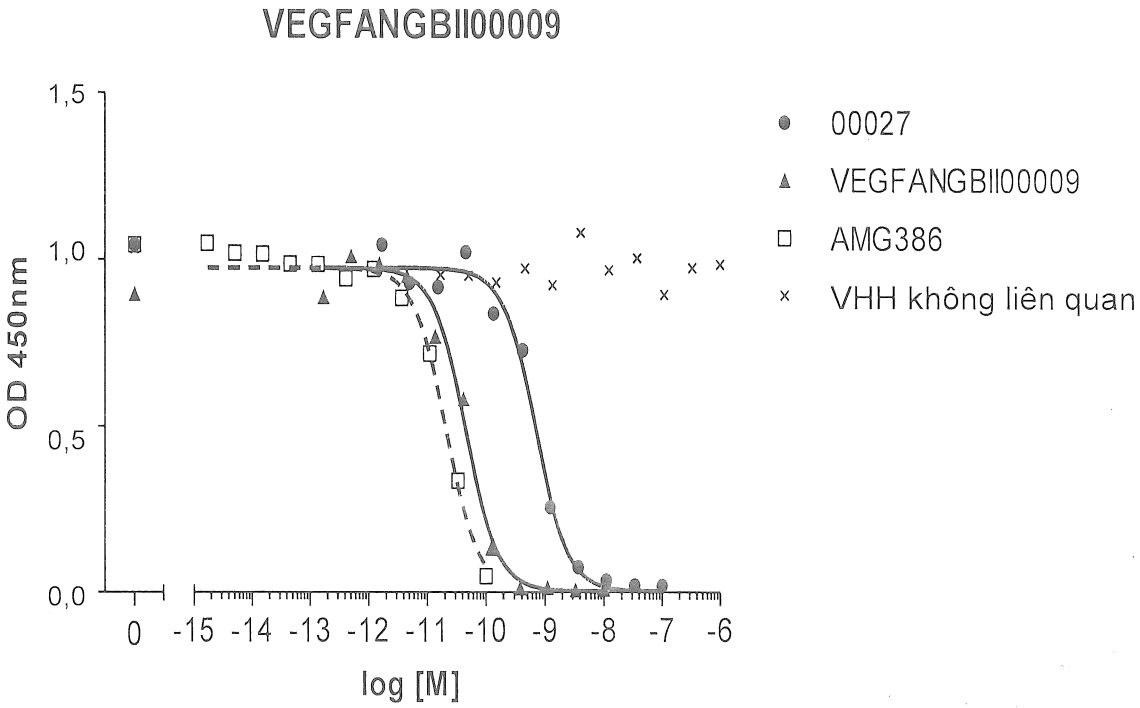

VEGFANGBII00009
OD 450nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00009
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-3D

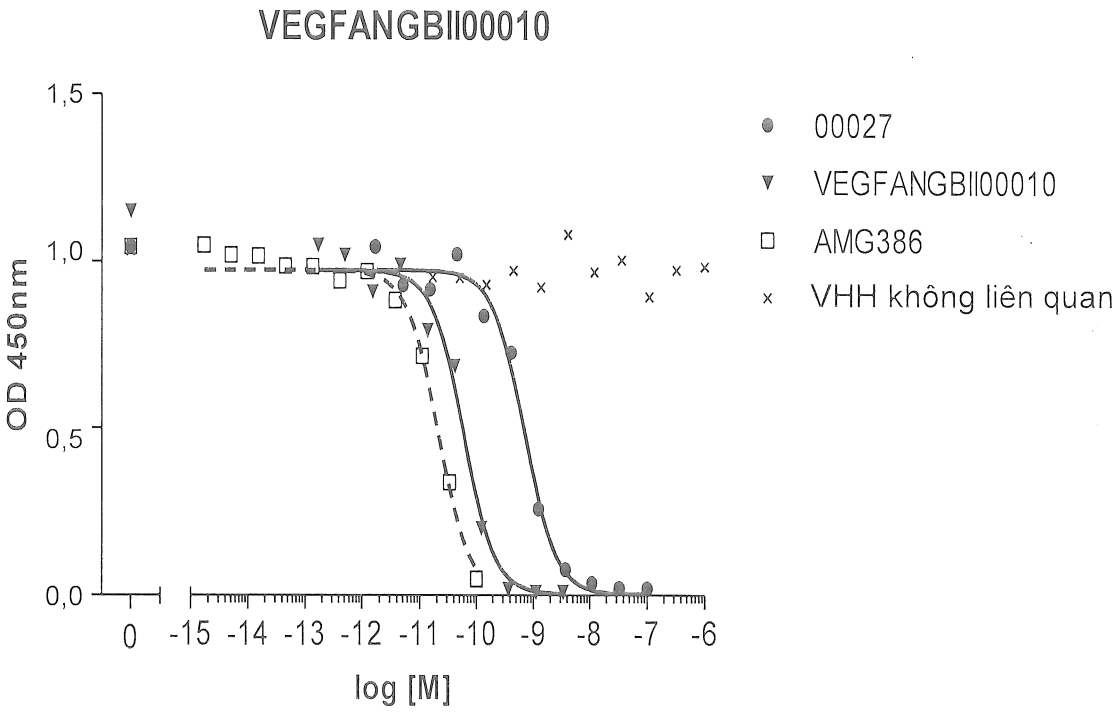

VEGFANGBII00010
1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450nm
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00027
VEGFANGBII00010
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-3E

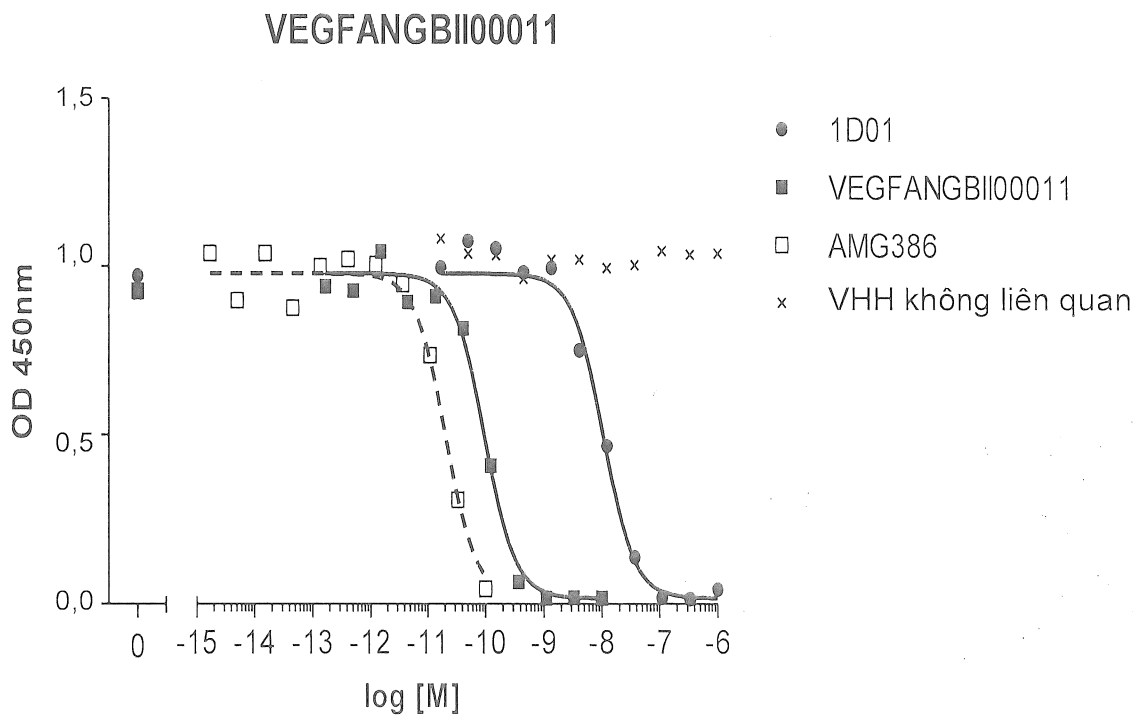

VEGFANGBII00011
OD 450nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
1D01
VEGFANGBII00011
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-3F

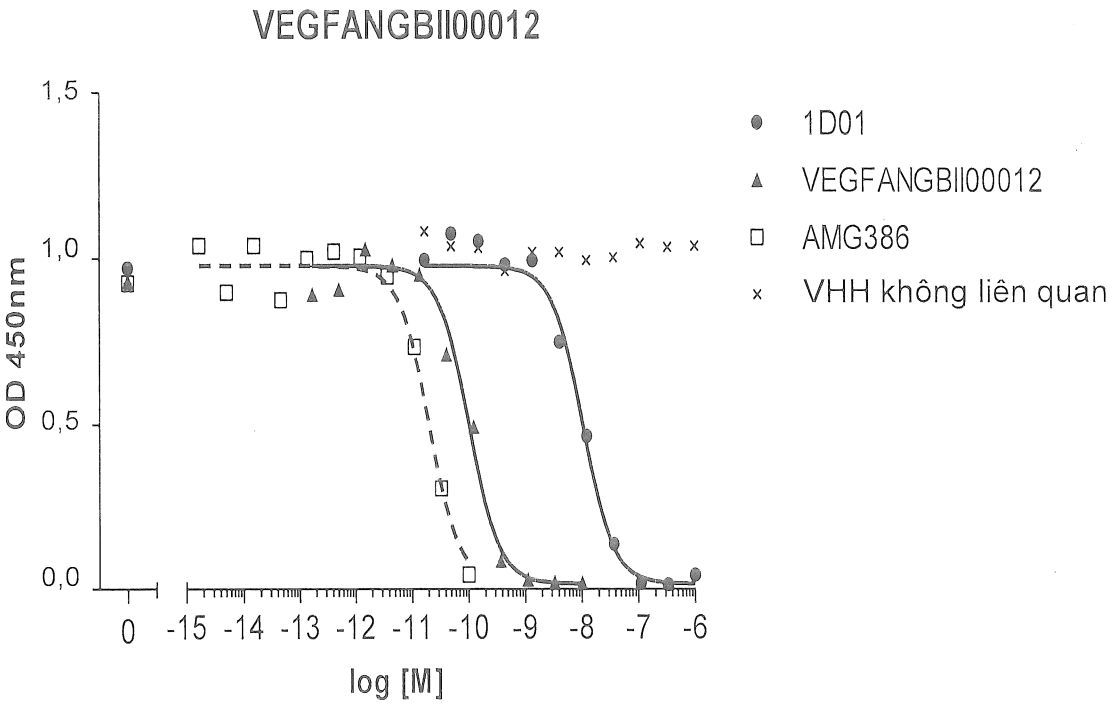

VEGFANGBII00012
1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450nm
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
1D01
VEGFANGBII00012
AMG386
VHH không liên quan

Fig.28-3G

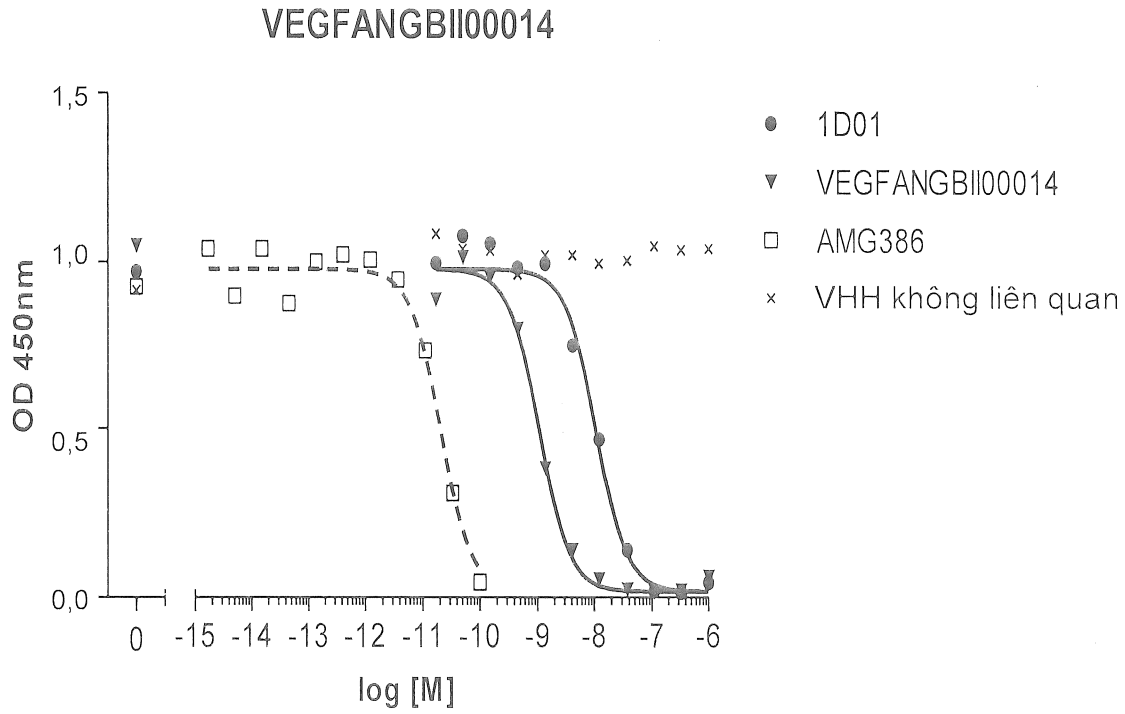

VEGFANGBII00014
OD 450nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
1D01
VEGFANGBII00014
AMG386
VHH không liên quan

Fig.29A

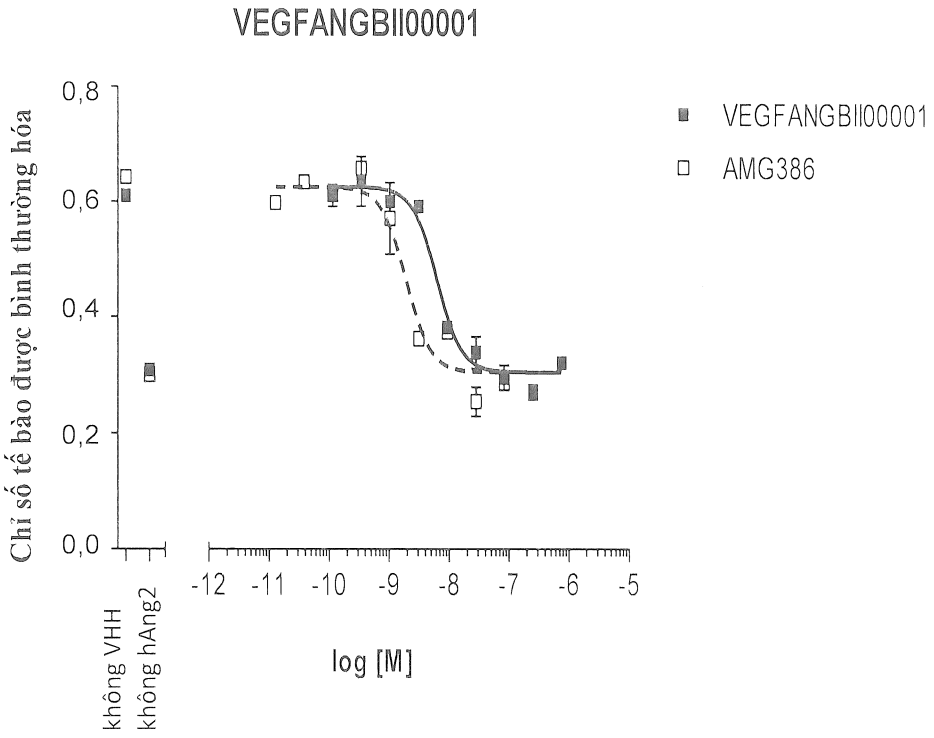

VEGFANGBII00001
Chỉ số tế bào được bình thường hóa
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
không VHH
không hAng2
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
VEGFANGBII00001
AMG386

Fig.29B

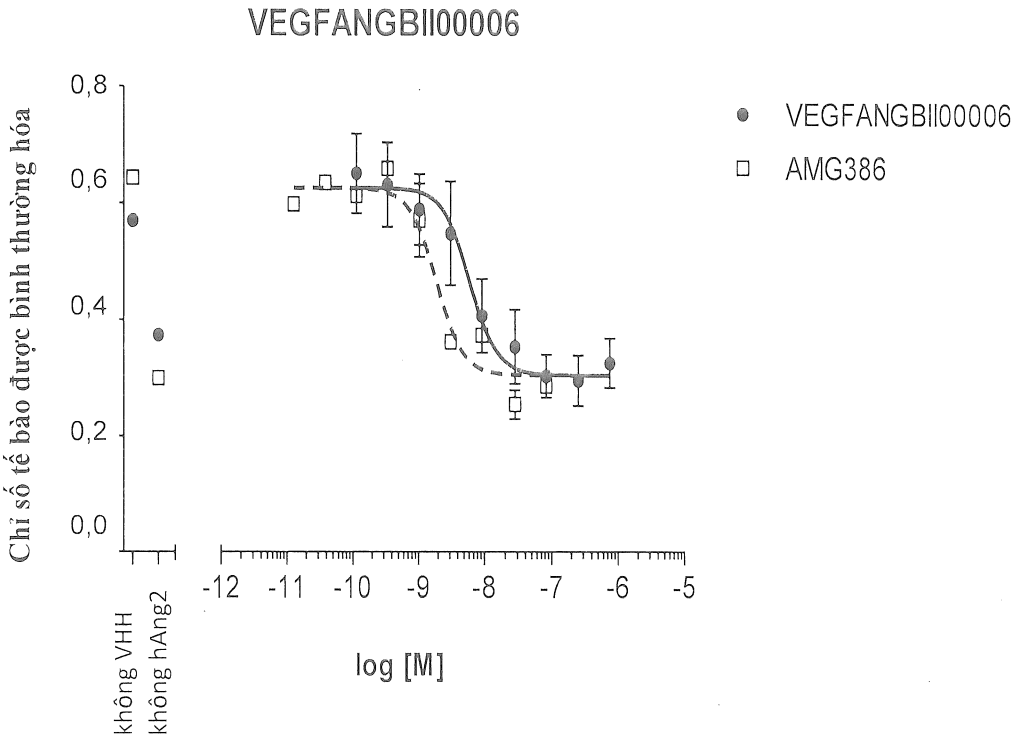

VEGFANGBII00006
Chỉ số tế bào được bình thường hóa
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
không VHH
không hAng2
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
VEGFANGBII00006
AMG386

Fig.29C

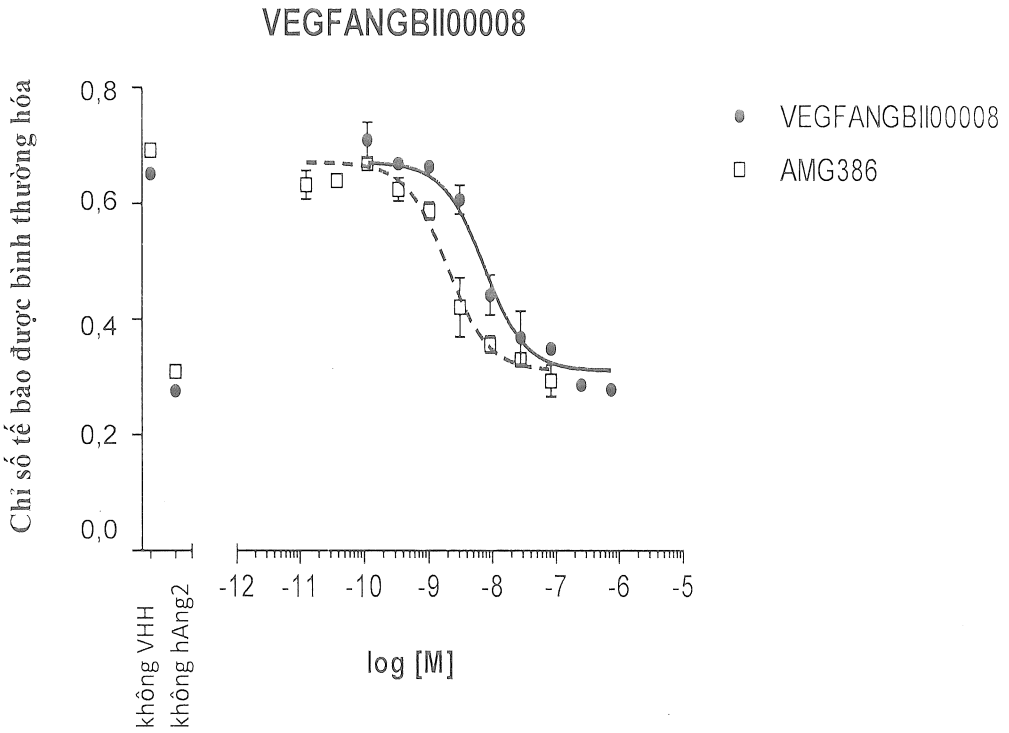

VEGFANGBII00008
Chỉ số tế bào được bình thường hóa
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
không VHH
không hAng2
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
VEGFANGBII00008
AMG386

Fig.29D

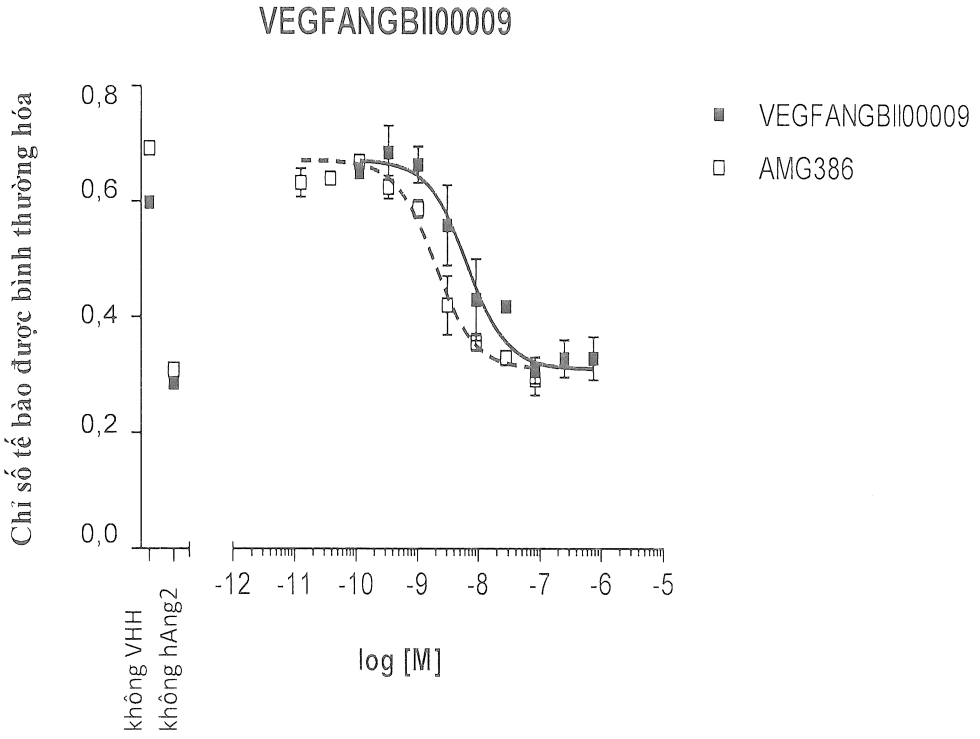

VEGFANGBII00009
Chỉ số tế bào được bình thường hóa
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
không VHH
không hAng2
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
VEGFANGBII00009
AMG386

Fig.29E

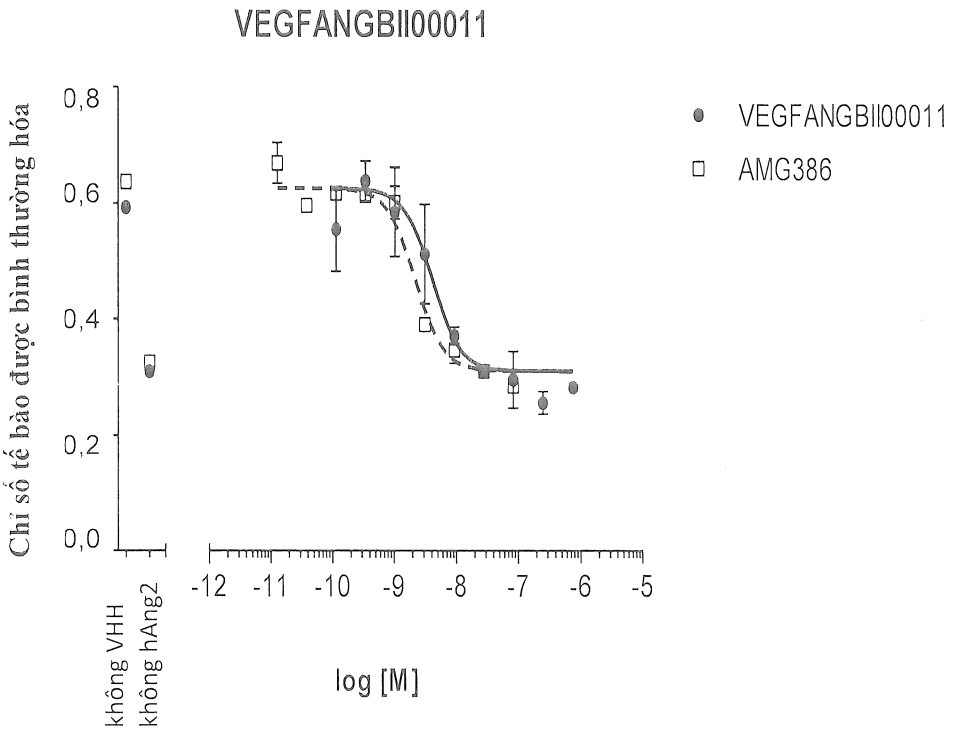
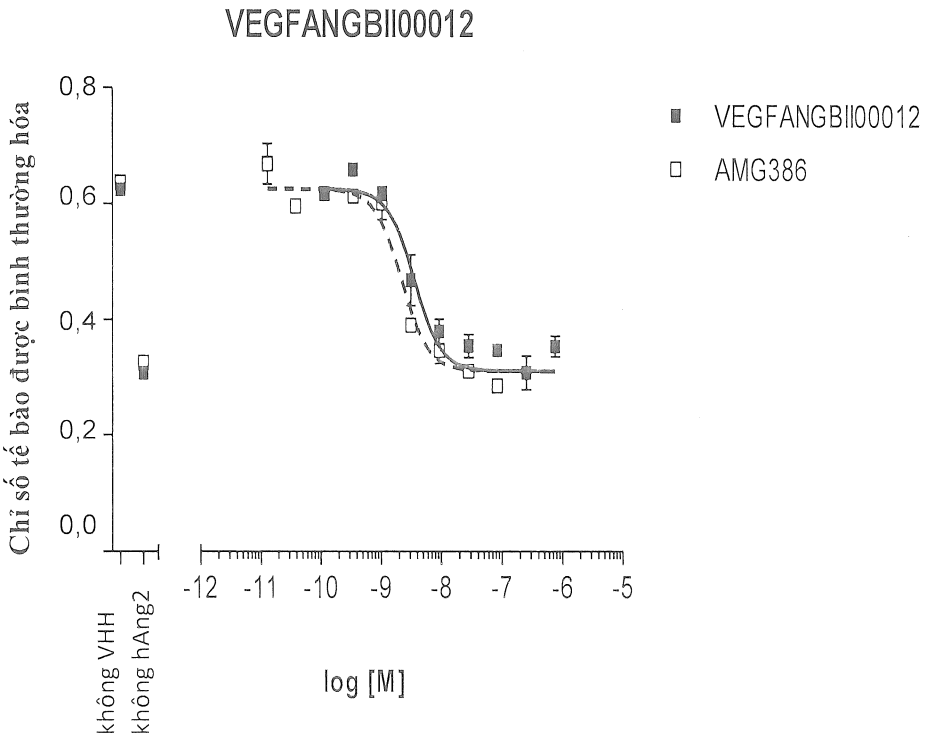
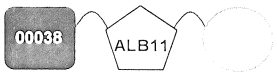
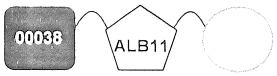
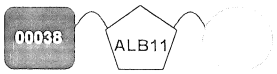
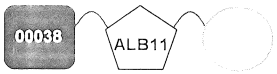
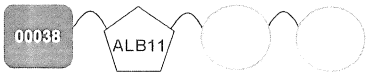
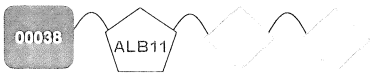
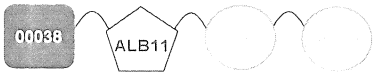

VEGFANGBII00011
Chỉ số tế bào được bình thường hóa
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
không VHH
không hAng2
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
VEGFANGBII00011
AMG386

Fig.29F


VEGFANGBII00012
Chỉ số tế bào được bình thường hóa
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
không VHH
không hAng2
VEGFANGBII00012
AMG386

95 / 125

Fig.30

VHH ID	Dạng mẫu	Mô tả
VEGFANGBII00015		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00908
VEGFANGBII00016		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00932
VEGFANGBII00017		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00933
VEGFANGBII00018		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00934
VEGFANGBII00019		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00935
VEGFANGBII00020		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00936
VEGFANGBII00021		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00937
VEGFANGBII00022		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00938
VEGFANGBII00023		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00919-9gs-00919
VEGFANGBII00024		VEGFBII00038-9gs-00919-9gs-00919-9gs-ALB11
VEGFANGBII00025		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00921-9gs-00921
VEGFANGBII00026		VEGFBII00038-9gs-00921-9gs-00921-9gs-ALB11
VEGFANGBII00027		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00928
VEGFANGBII00028		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00956-9gs-00956

96 / 125

Fig.30 (tiếp)

Ghi chú:

	Mô tả		Mô tả
	VEGFBII00038		00937
	00908		00938
	00919		00956
	00932		00921
	00933		00928
	00934		ALB11
	00935		Cầu liên kết *9* *GlySer*
	00936		

Fig.31-1A

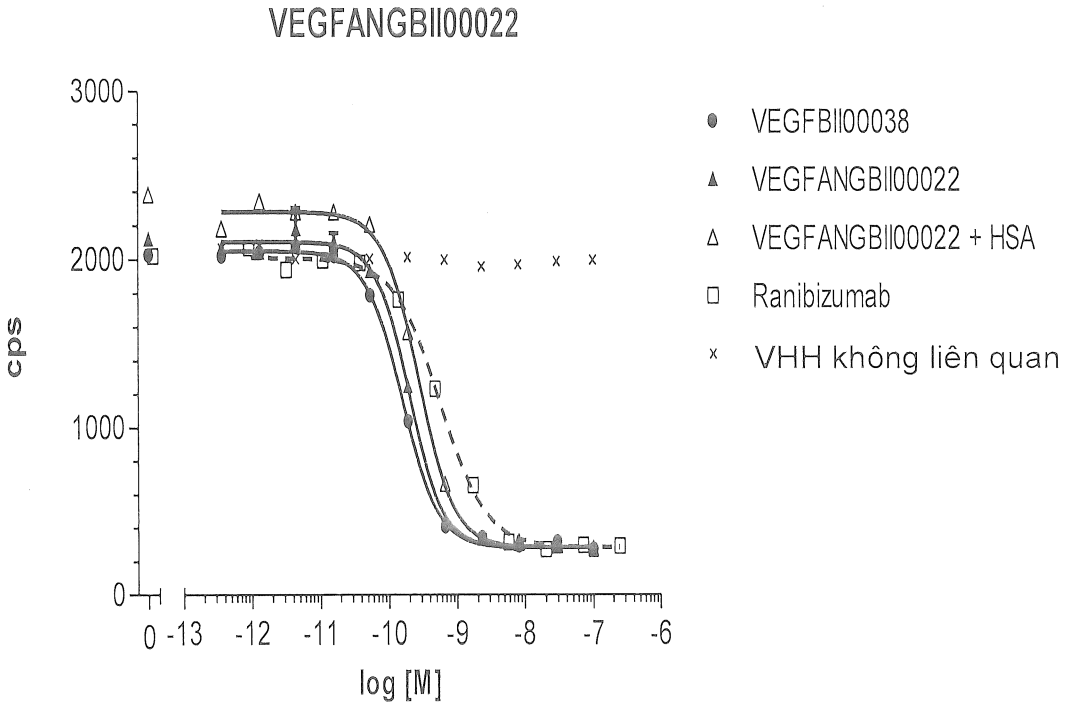

VEGFANGBII00022
cps
3000
2000
1000
0
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00022 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.31-1B

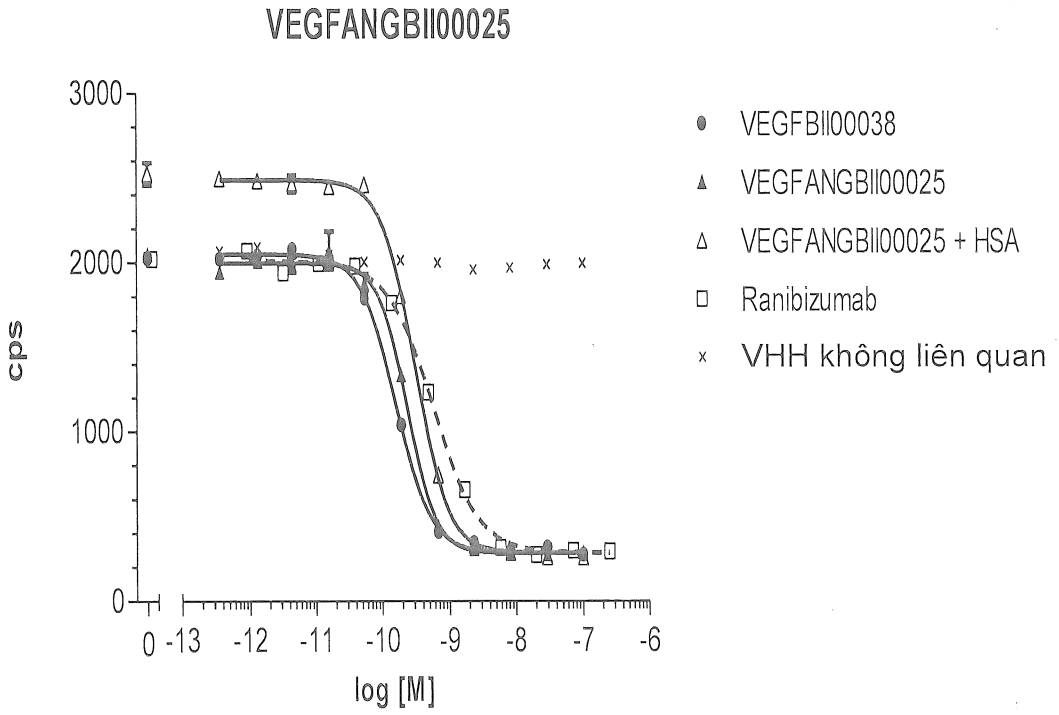

VEGFANGBII00025
cps
3000
2000
1000
0
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00025 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.31-1C

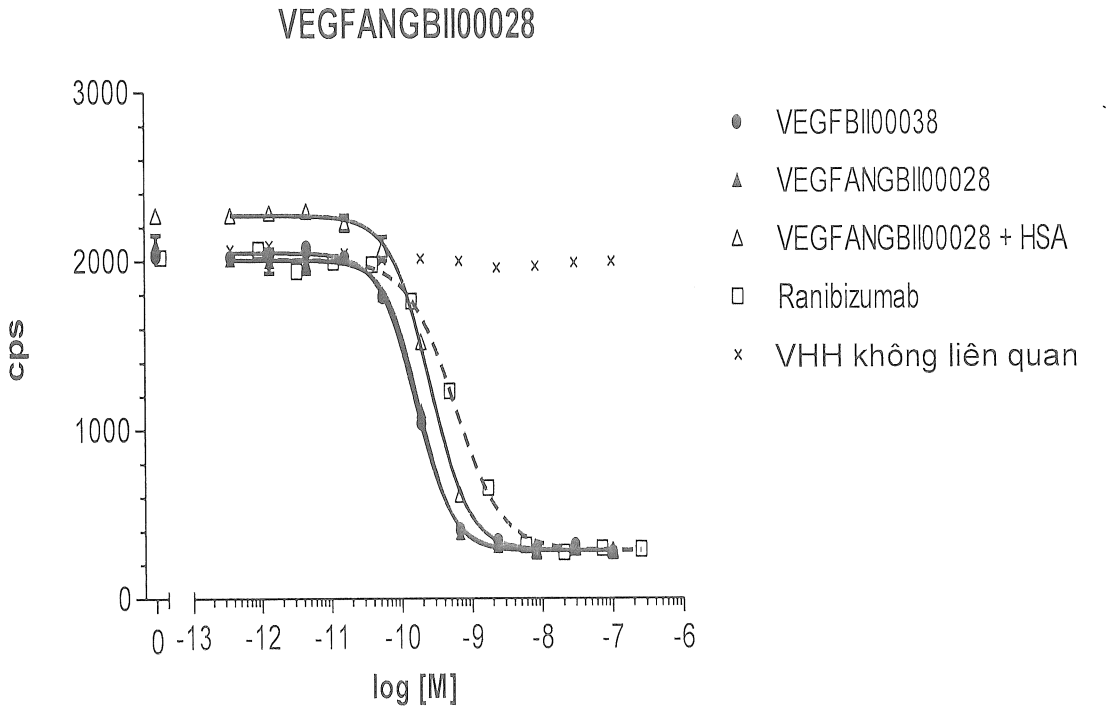

VEGFANGBII00028
3000
2000
1000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00028
VEGFANGBII00028 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.31-2A

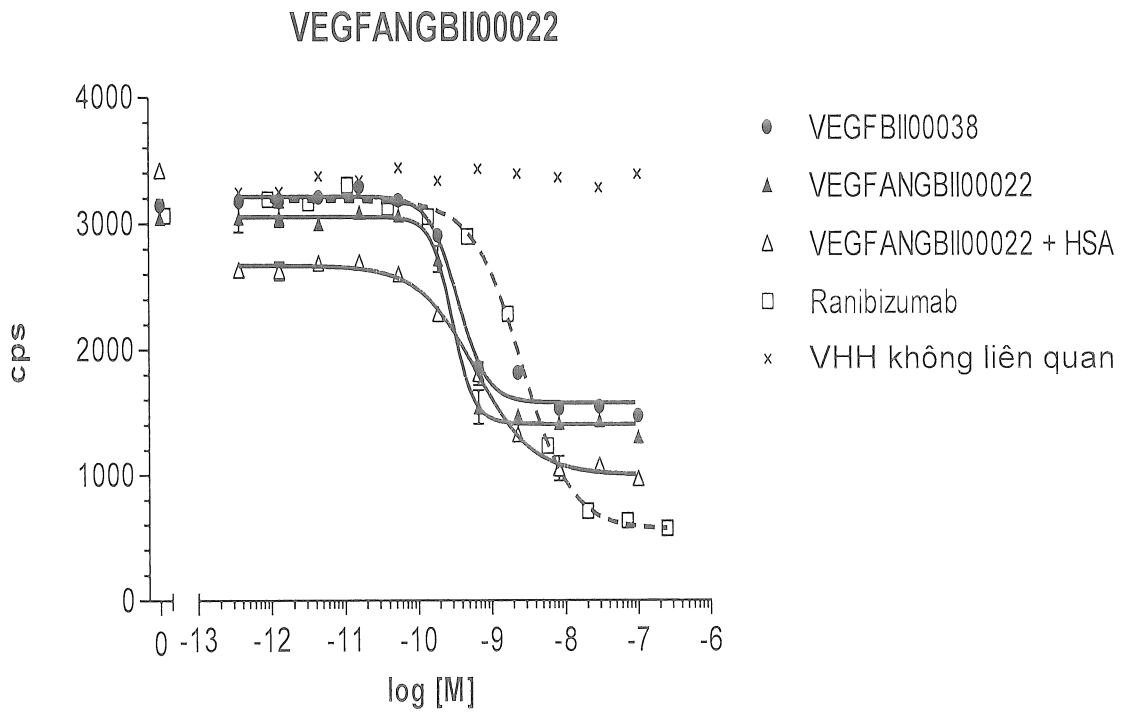

VEGFANGBII00022
4000
3000
2000
1000
0
cps
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00022 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.31-2B

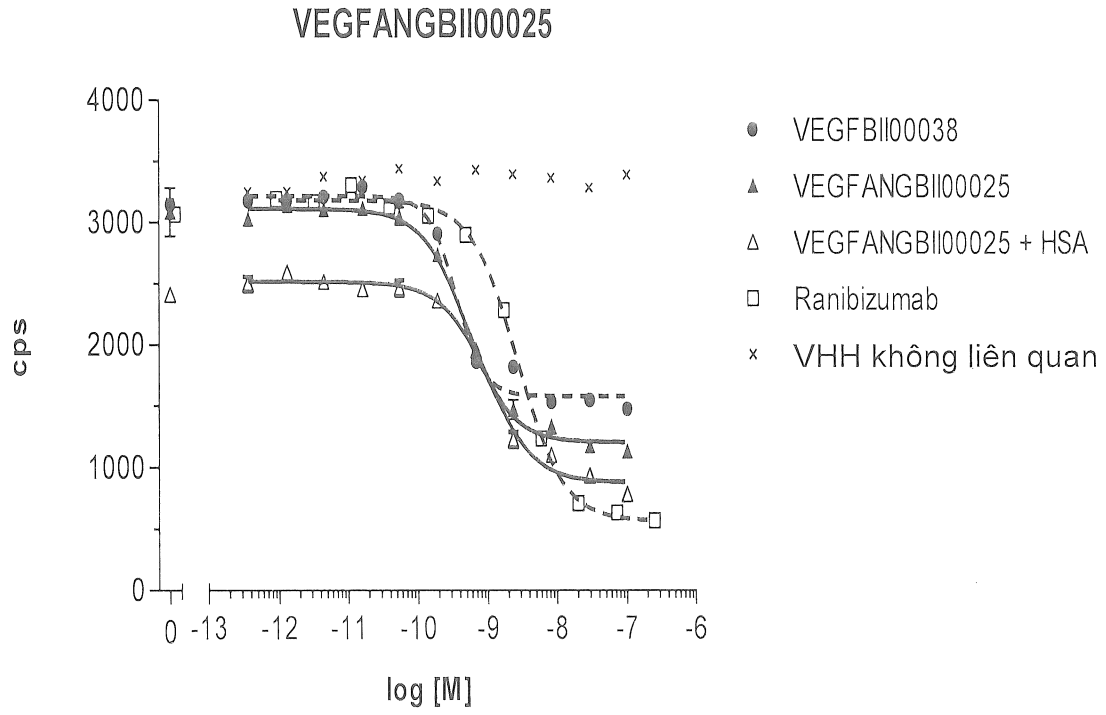

VEGFANGBII00025
cps
4000
3000
2000
1000
0
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00025 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.31-2C

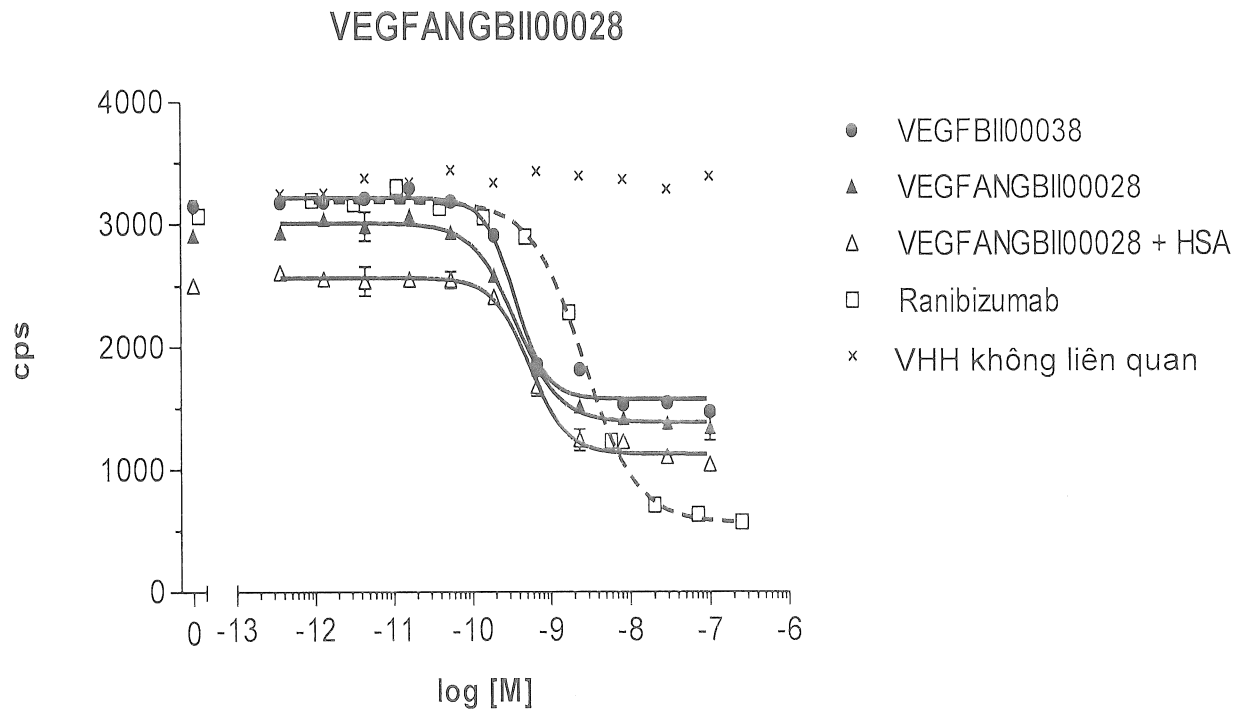

VEGFANGBII00028
cps
4000
3000
2000
1000
0
0 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
VEGFBII00038
VEGFANGBII00028
VEGFANGBII00028 + HSA
Ranibizumab
VHH không liên quan

Fig.32A

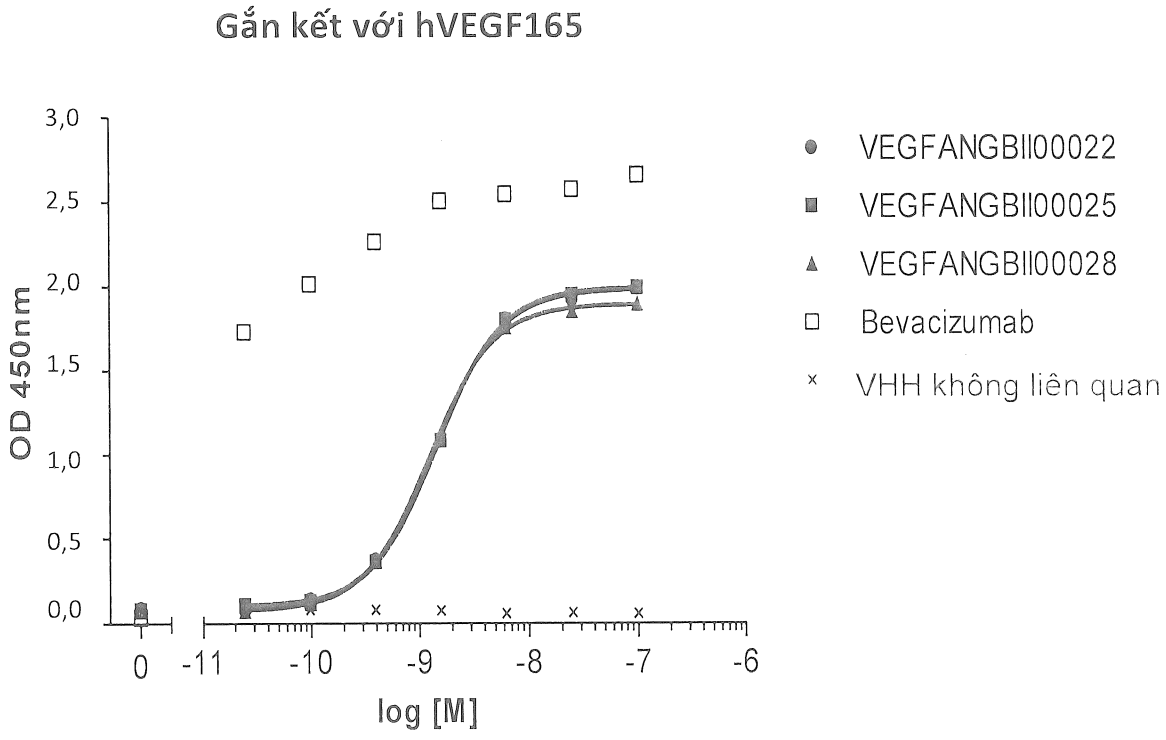
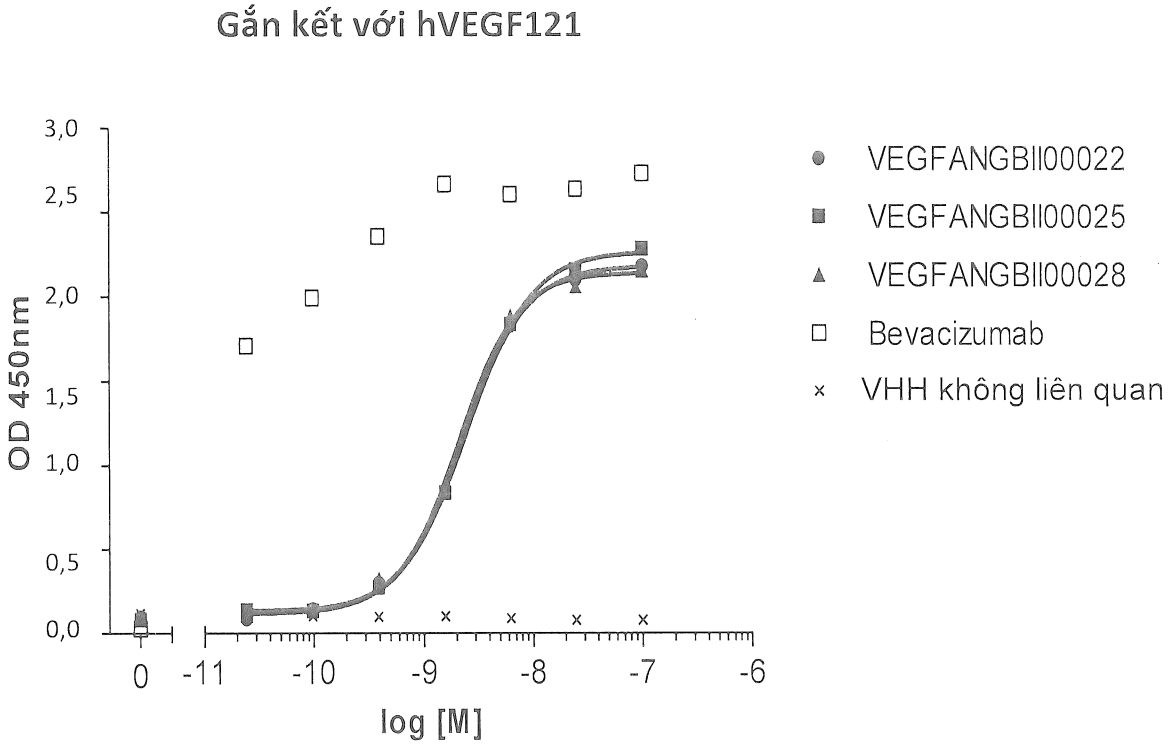

Gắn kết với hVEGF165
OD 450nm
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00028
Bevacizumab
VHH không liên quan

Fig.32B


Gắn kết với hVEGF121
OD 450nm
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00028
Bevacizumab
VHH không liên quan

105 / 125

Fig.33A

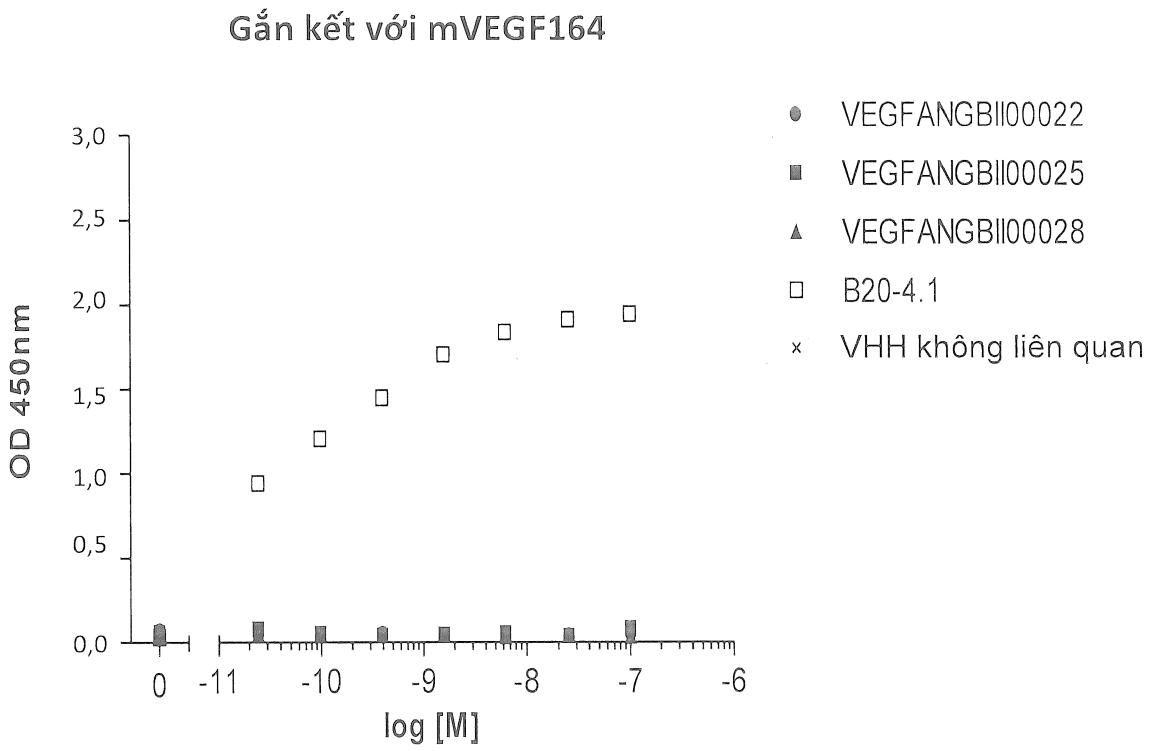


Fig.33B

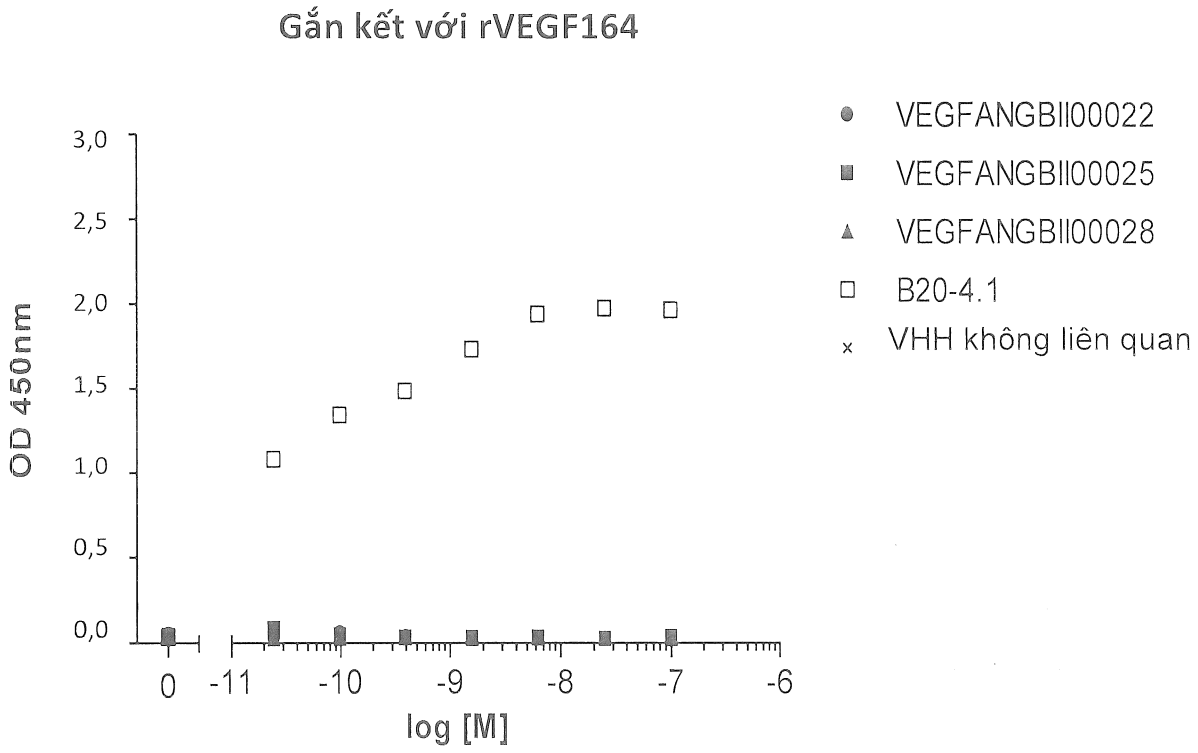

Gắn kết với rVEGF164
OD 450nm
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00028
B20-4.1
VHH không liên quan

Fig.34A

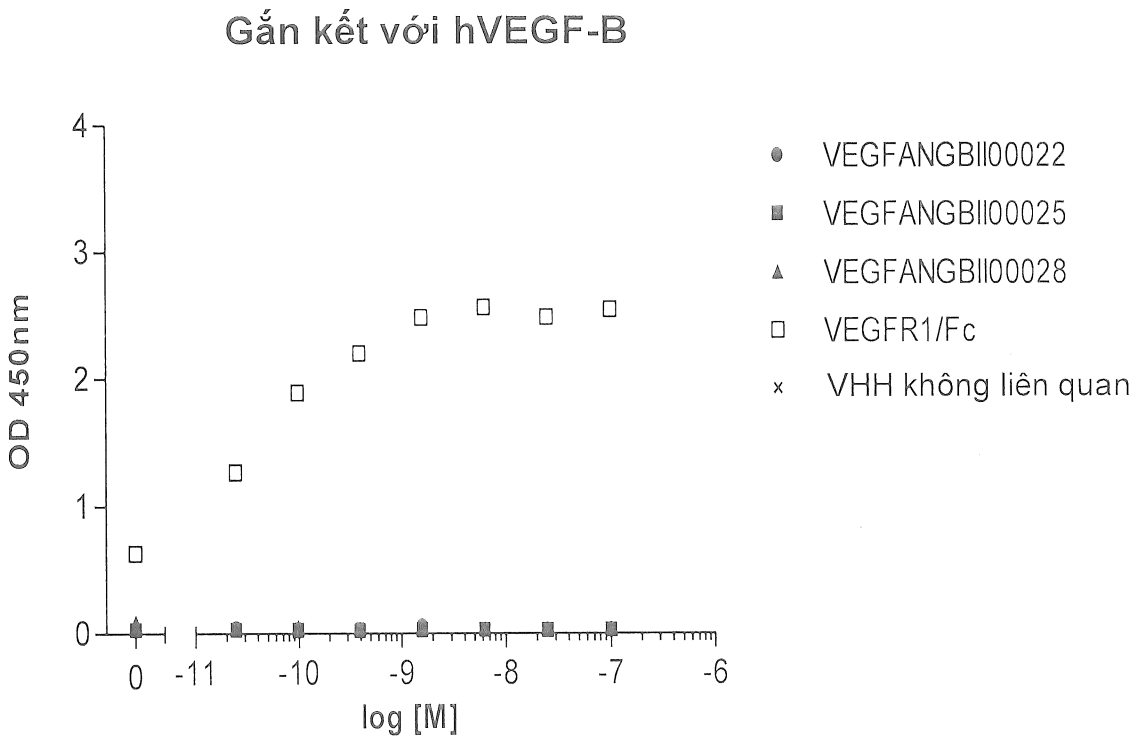

Gắn kết với hVEGF-B
OD 450nm
4
3
2
1
0
0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00028
VEGFR1/Fc
VHH không liên quan

Fig.34B

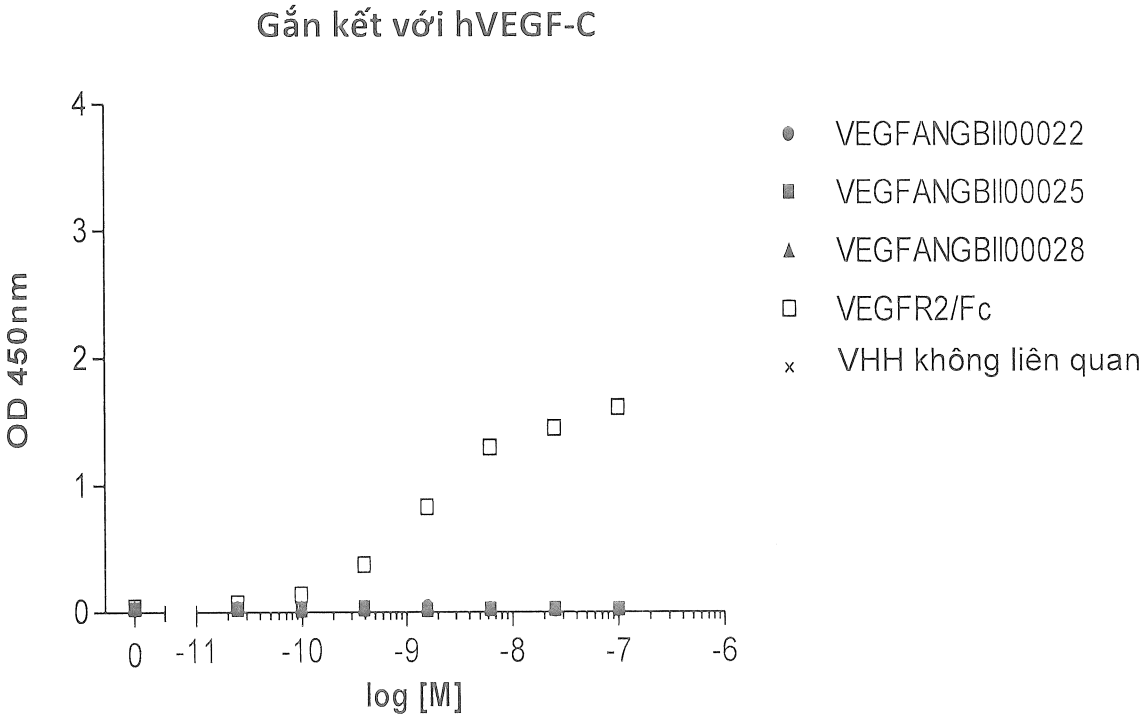

Gắn kết với hVEGF-C
OD 450nm
4
3
2
1
0
0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00028
VEGFR2/Fc
VHH không liên quan

Fig.34C

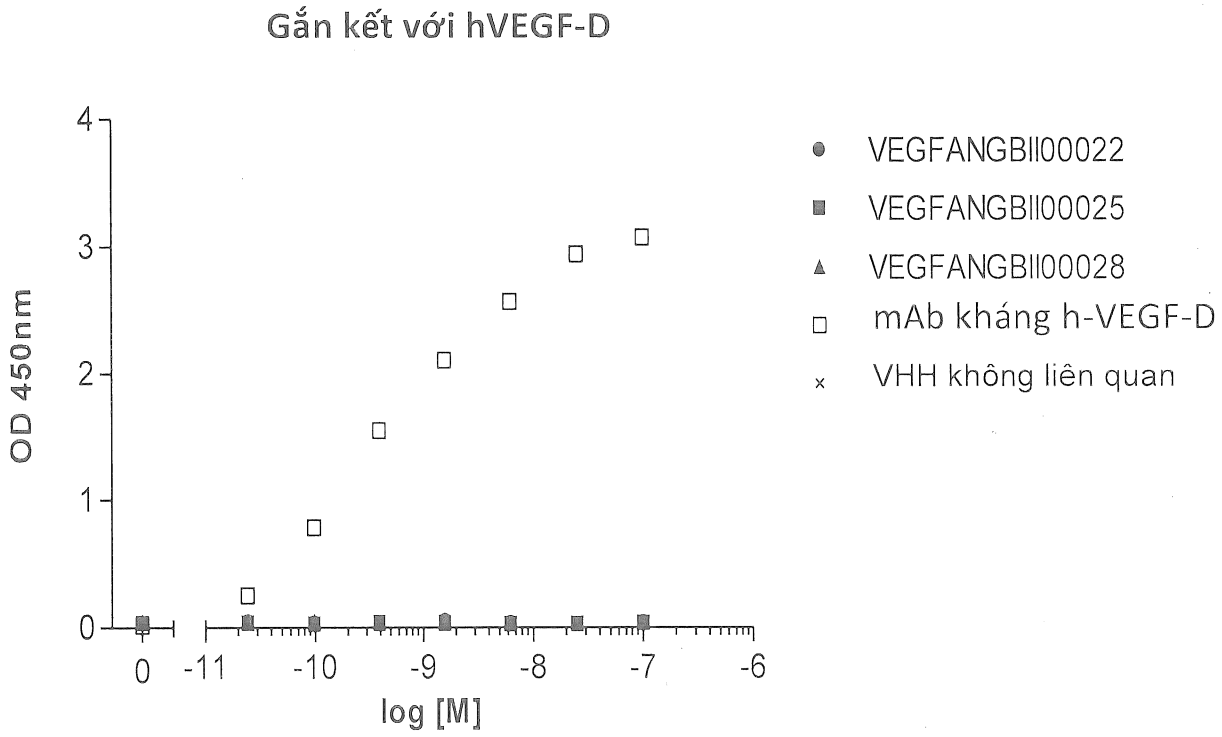

Gắn kết với hVEGF-D
OD 450nm
4
3
2
1
0
0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00028
mAb kháng h-VEGF-D
VHH không liên quan

Fig.34D

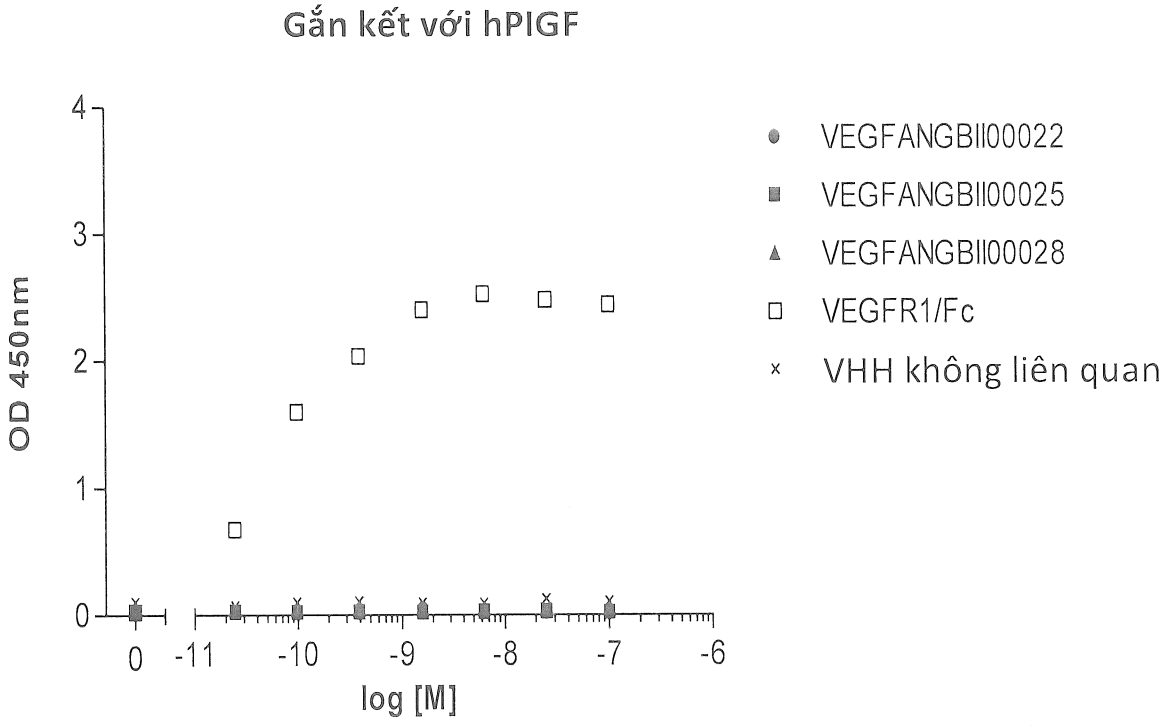

Gắn kết với hPIGF
OD 450nm
4
3
2
1
0
0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00028
VEGFR1/Fc
VHH không liên quan

Fig.35-1A

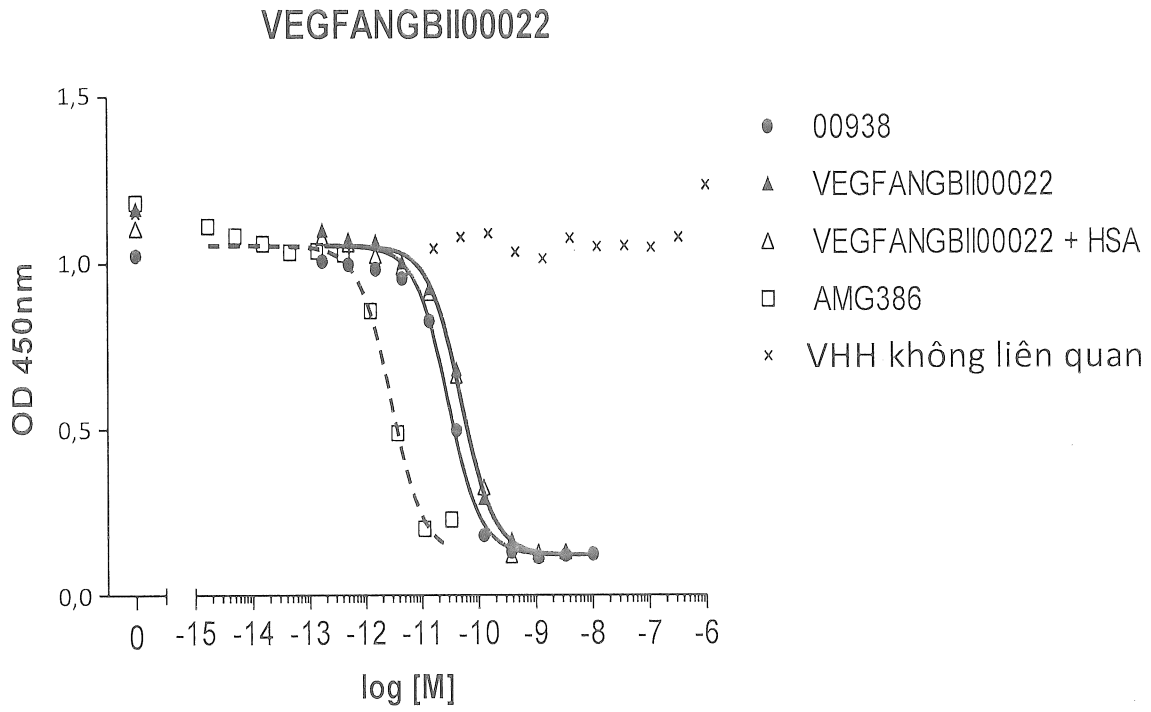

VEGFANGBII00022
OD 450nm
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
00938
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00022 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.35-1B

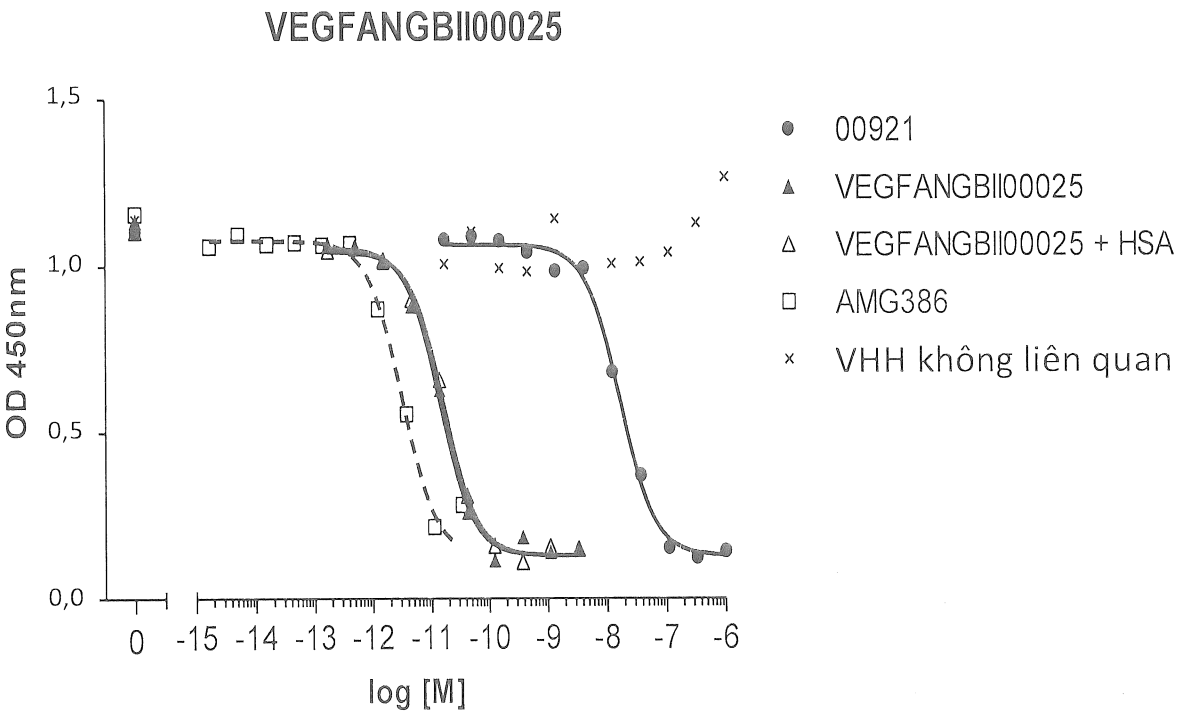

VEGFANGBII00025
1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450nm
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00921
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00025 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.35-1C

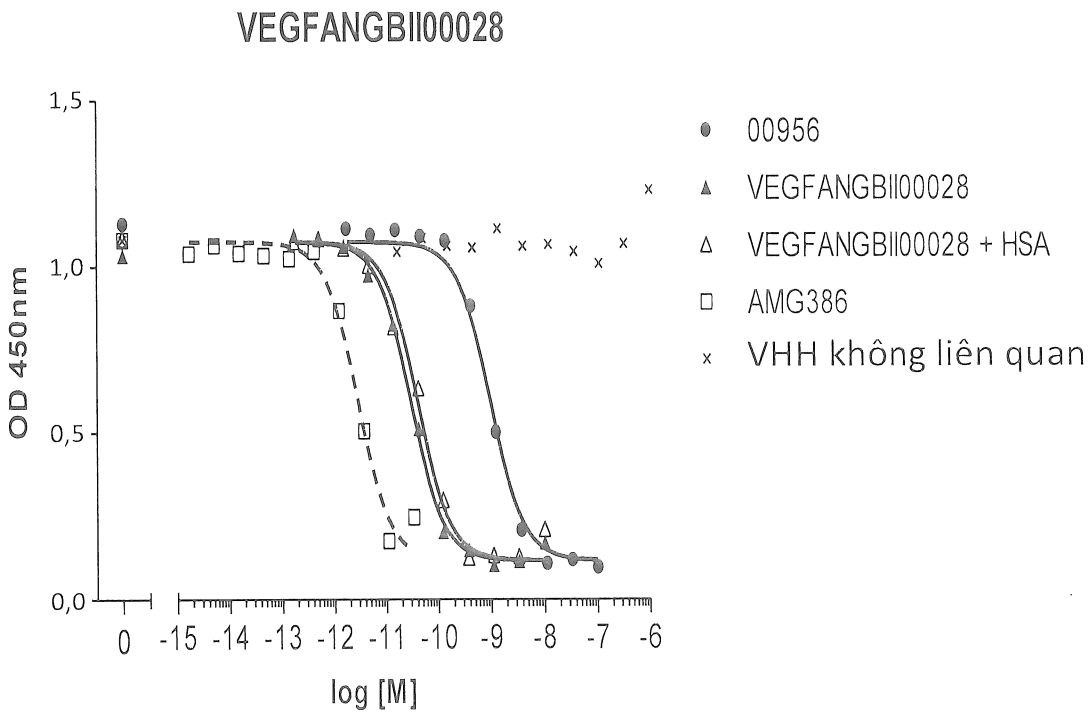

VEGFANGBII00028
1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450nm
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00956
VEGFANGBII00028
VEGFANGBII00028 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.35-2A

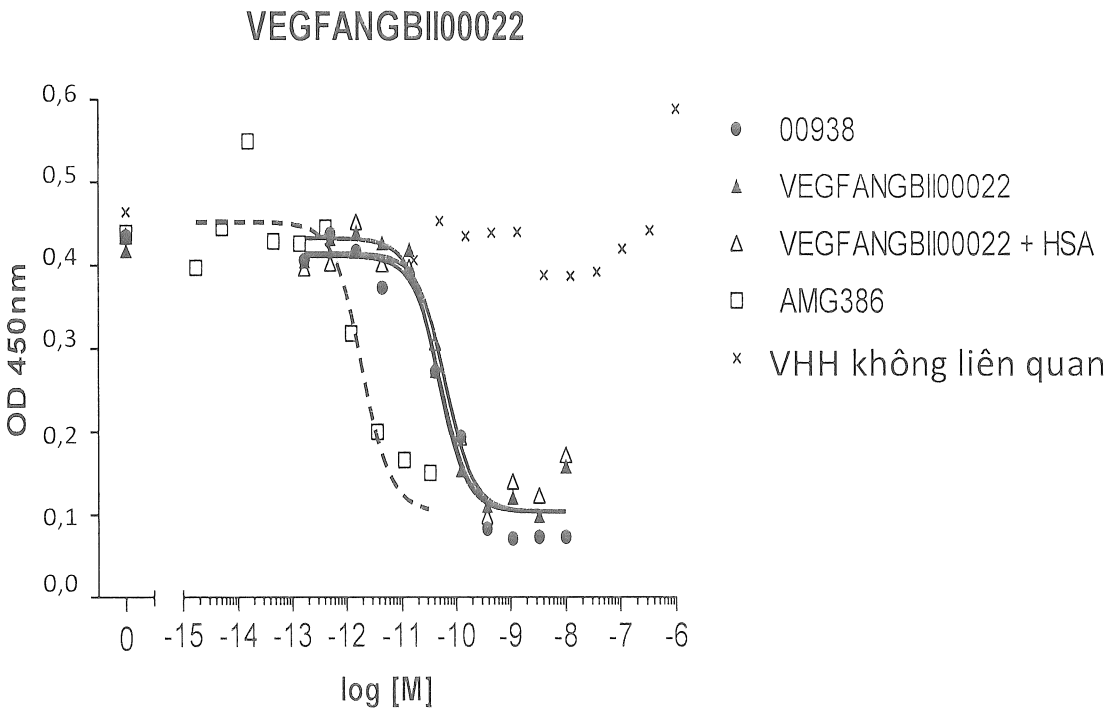

VEGFANGBII00022
OD 450nm
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0,0
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00938
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00022 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.35-2B

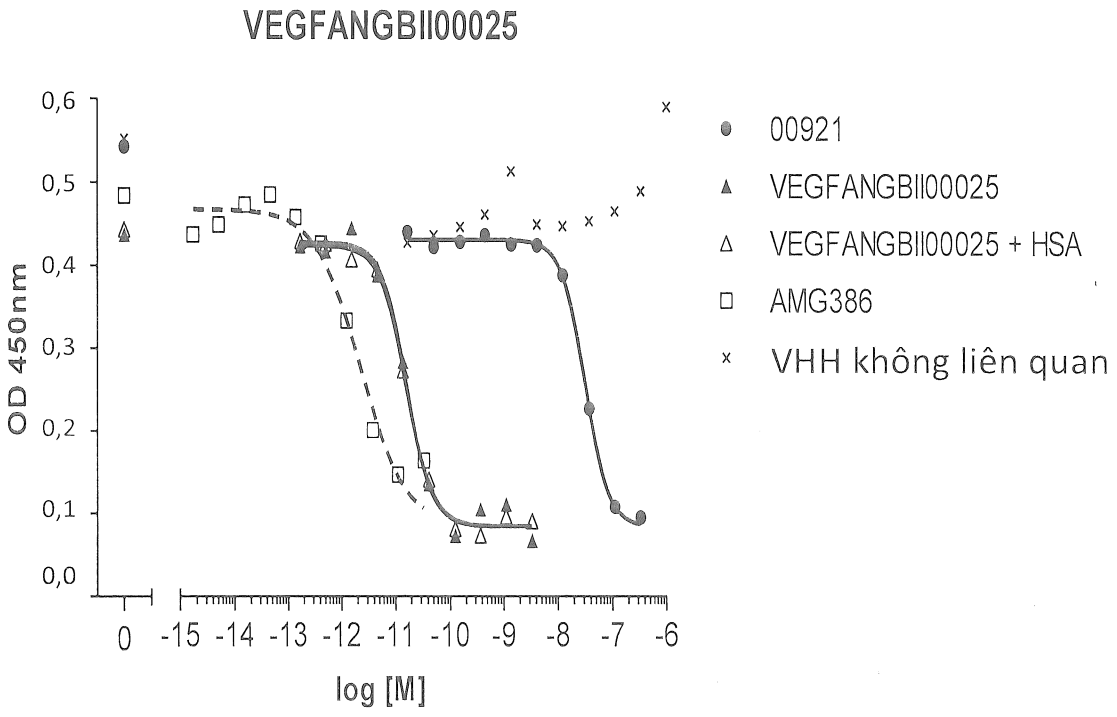

VEGFANGBII00025
OD 450nm
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0,0
0
-15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
00921
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00025 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.35-2C

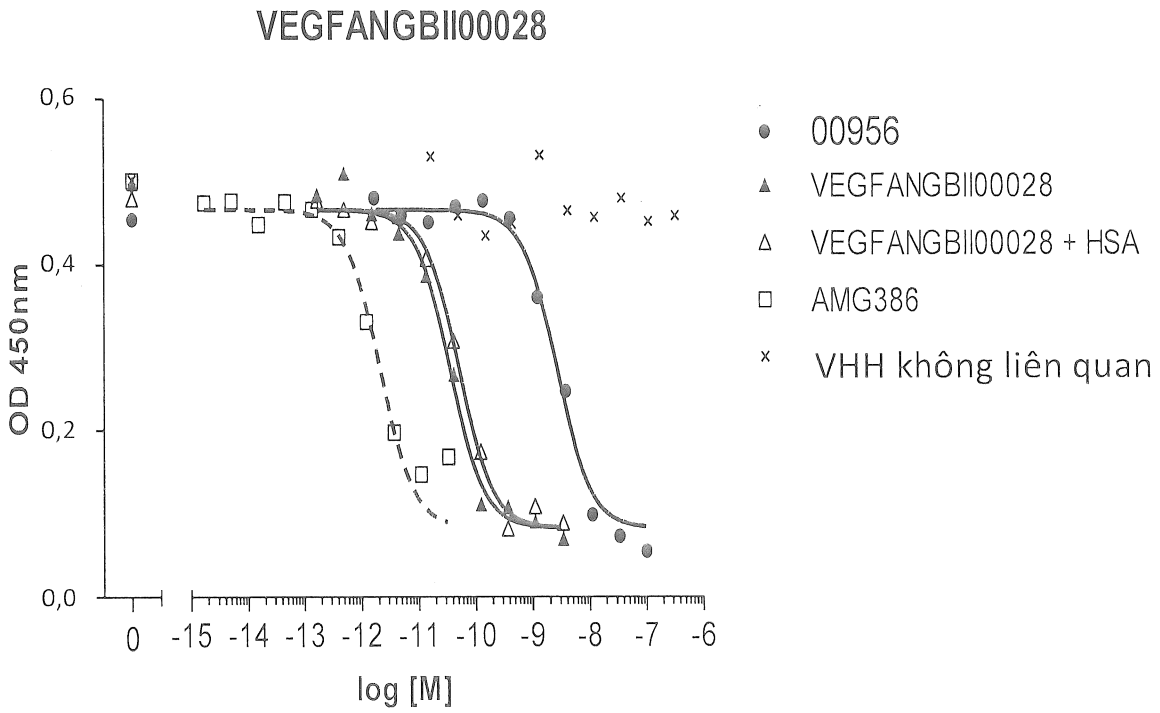

VEGFANGBII00028
0,6
0,4
0,2
0,0
OD 450nm
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00956
VEGFANGBII00028
VEGFANGBII00028 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.35-3A

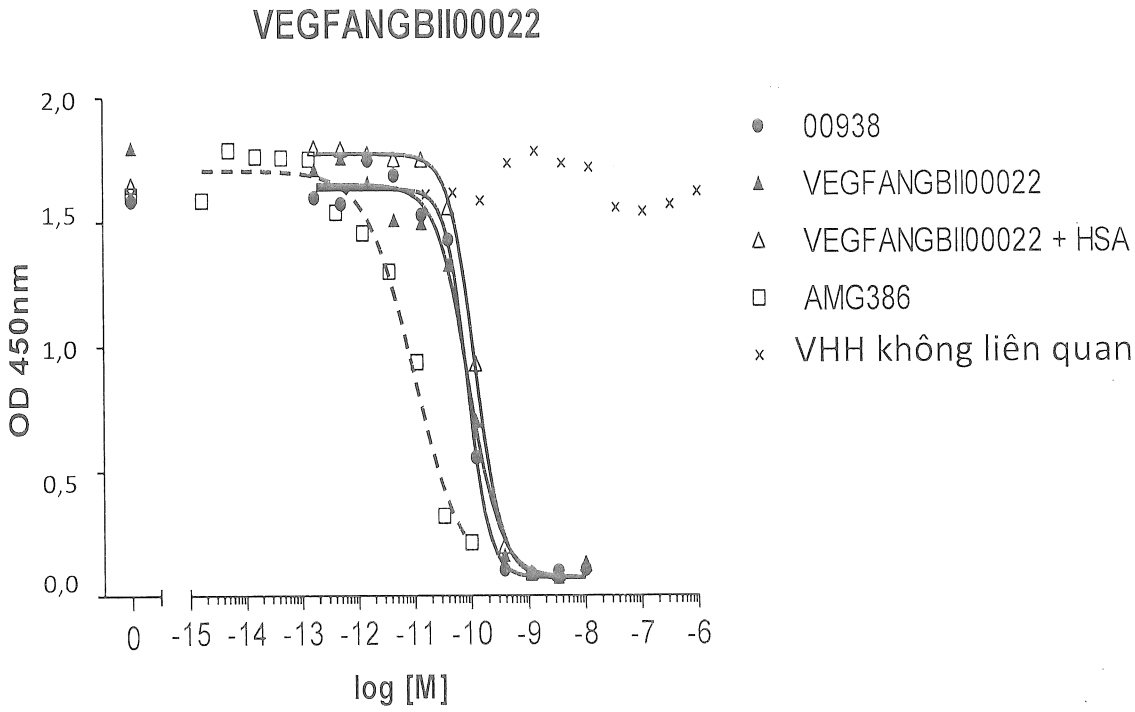

VEGFANGBII00022
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
OD 450nm
0
-15
-14
-13
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
log [M]
00938
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00022 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.35-3B

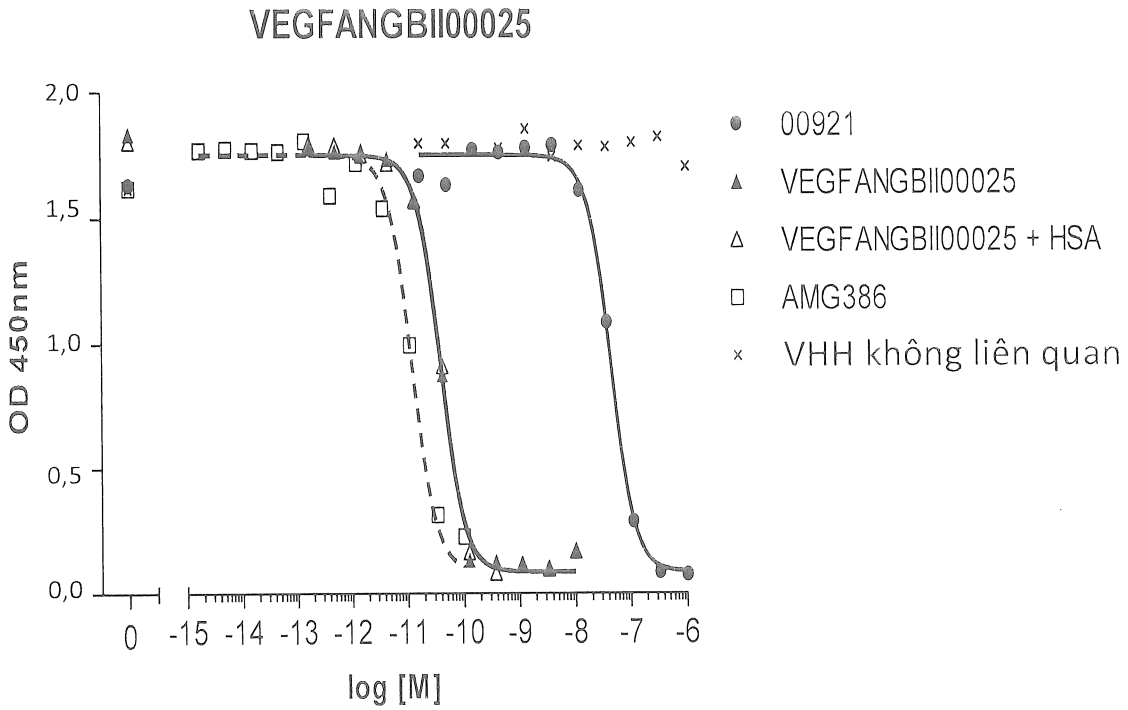

VEGFANGBII00025
OD 450nm
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
00921
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00025 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.35-3C

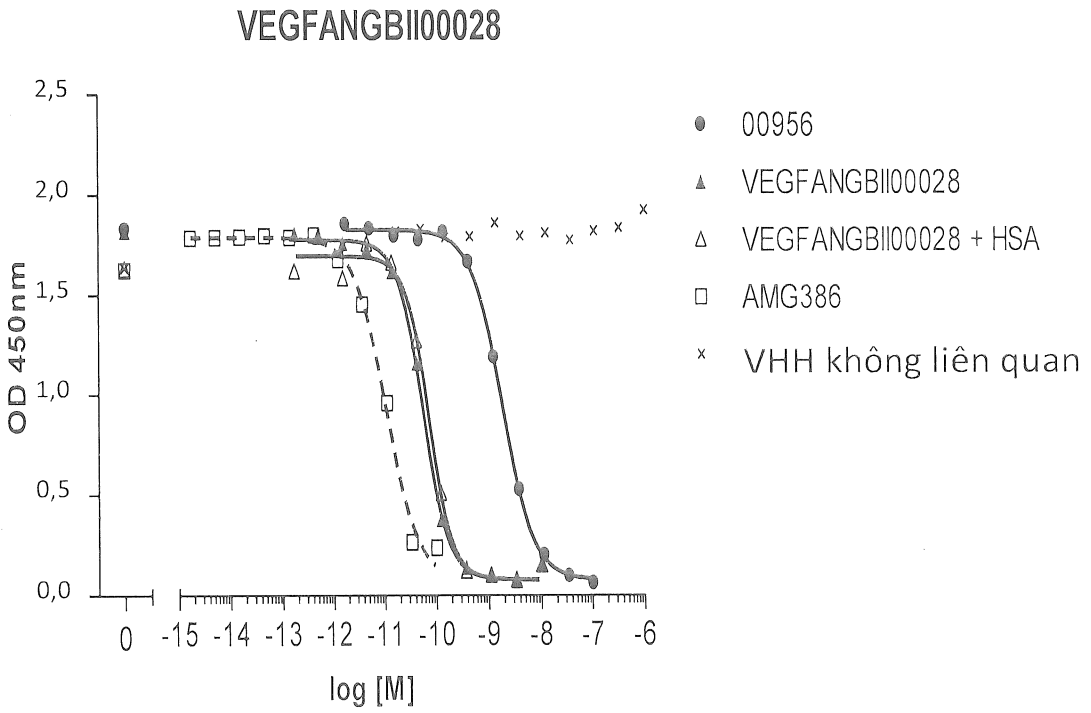

VEGFANGBII00028
OD 450nm
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-15 -14 -13 -12 -11 -10 -9 -8 -7 -6
log [M]
00956
VEGFANGBII00028
VEGFANGBII00028 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.36A

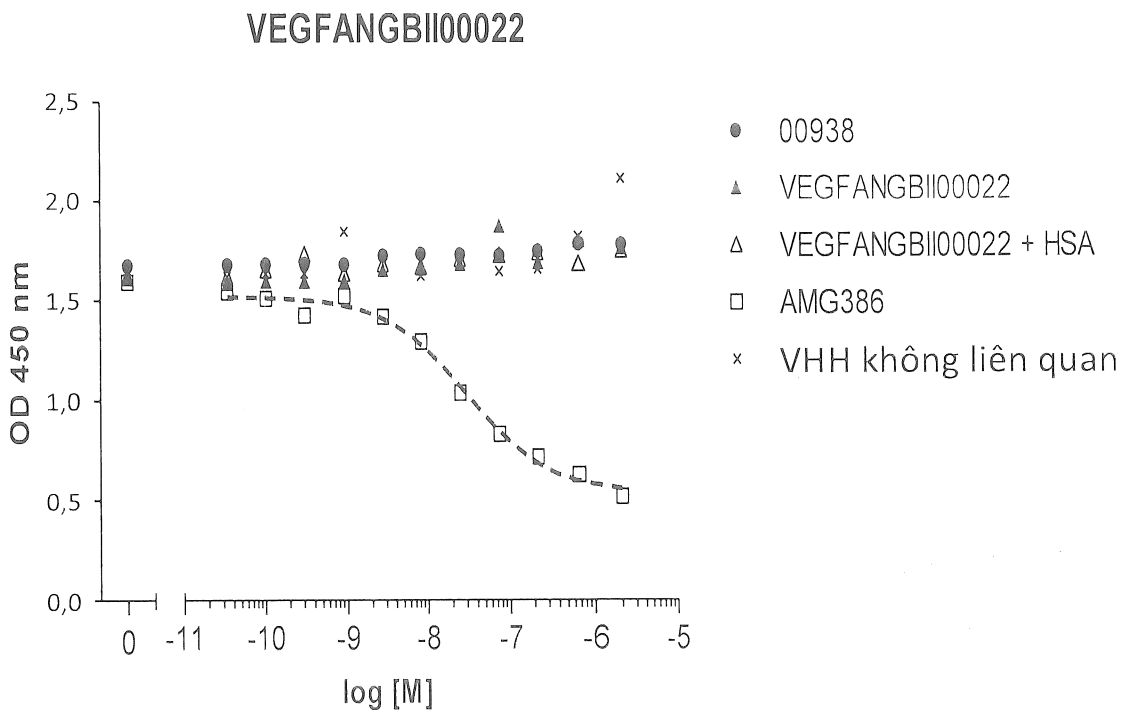

VEGFANGBII00022
OD 450 nm
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
00938
VEGFANGBII00022
VEGFANGBII00022 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.36B

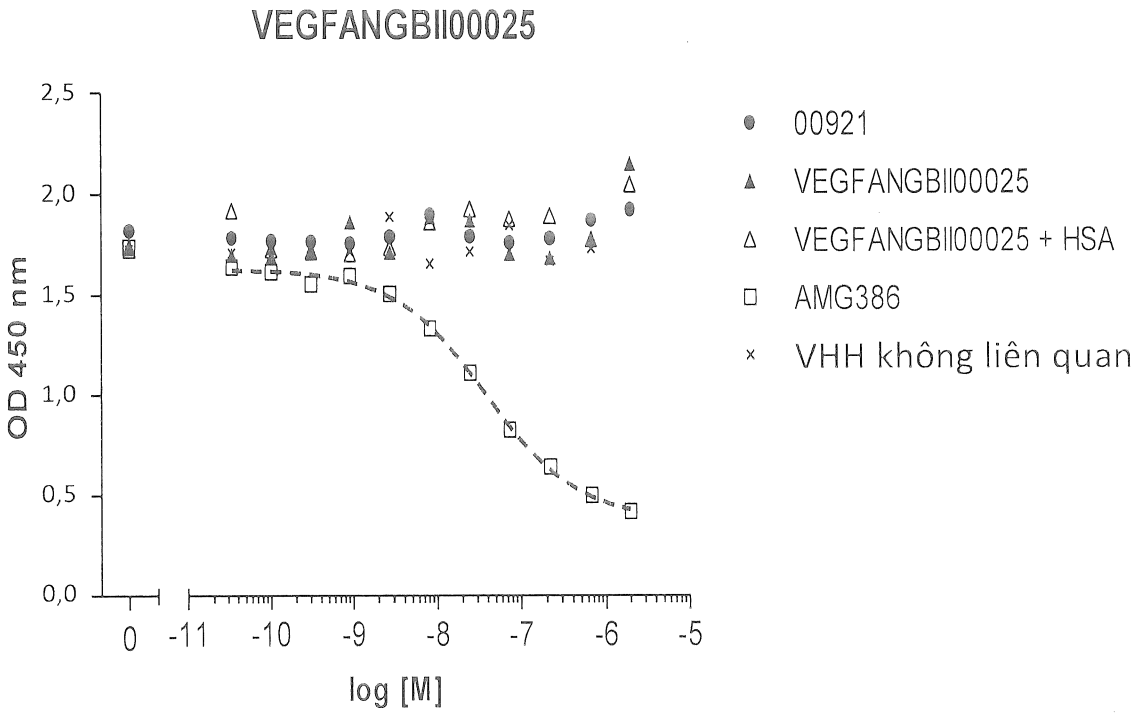

VEGFANGBII00025
OD 450 nm
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
00921
VEGFANGBII00025
VEGFANGBII00025 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.36C

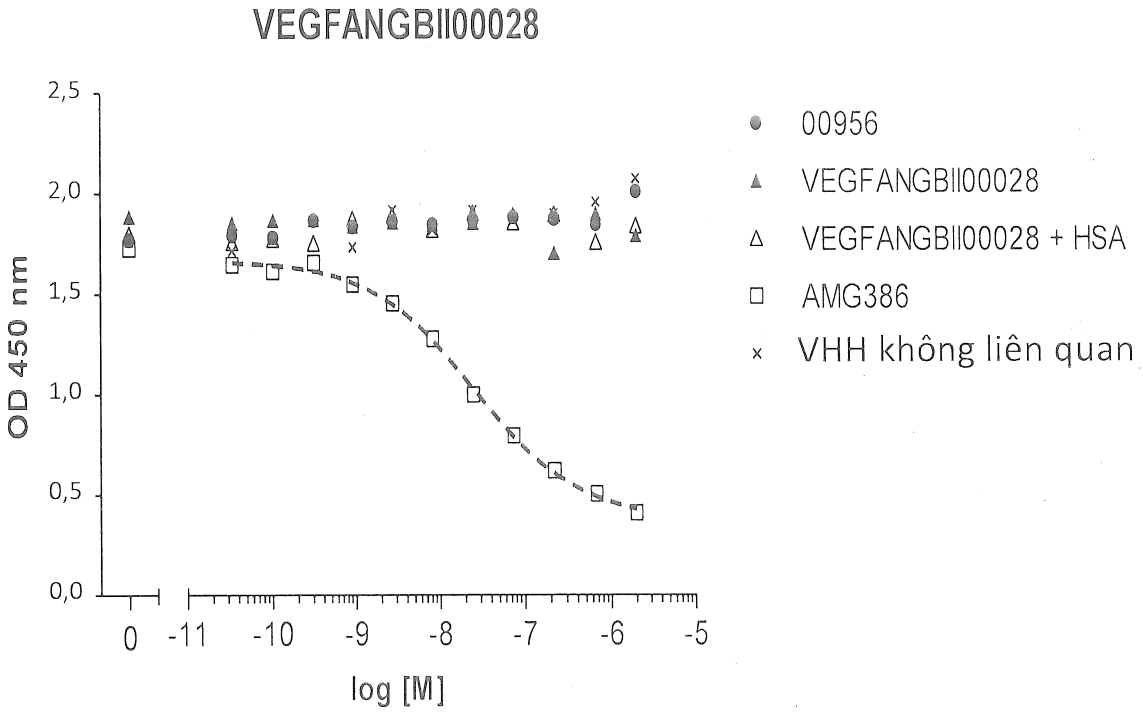

VEGFANGBII00028
OD 450 nm
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
00956
VEGFANGBII00028
VEGFANGBII00028 + HSA
AMG386
VHH không liên quan

Fig.37A

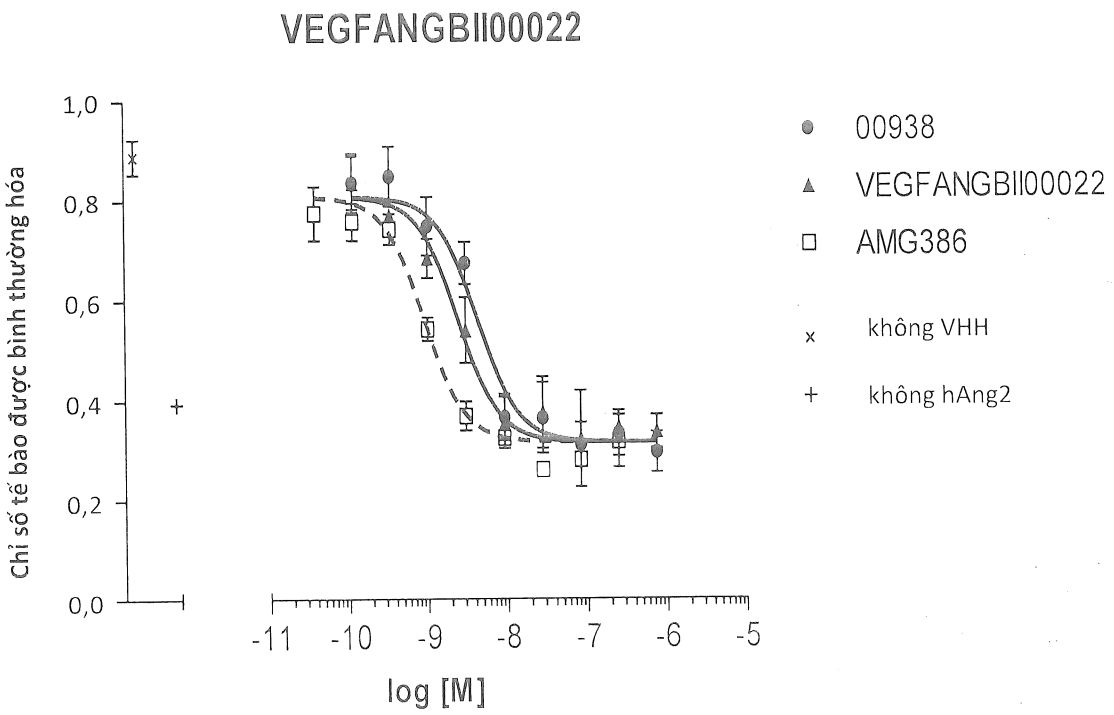
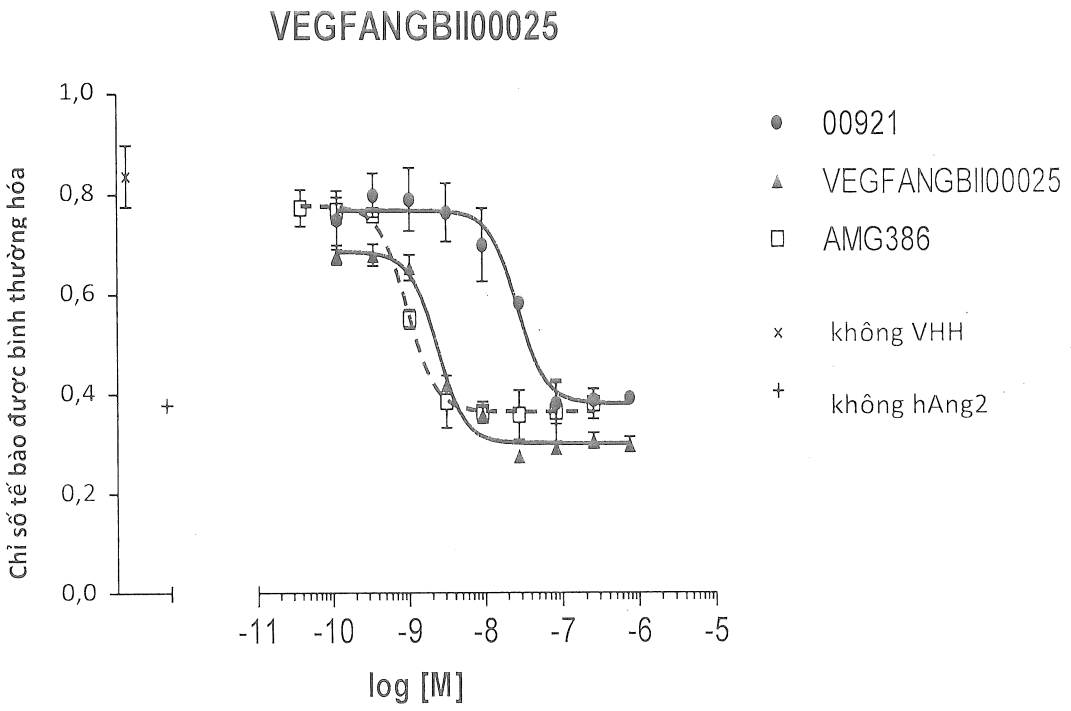

VEGFANGBII00022
Chỉ số tế bào được bình thường hóa
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
+
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
00938
VEGFANGBII00022
AMG386
không VHH
không hAng2

Fig.37B


VEGFANGBII00025
Chỉ số tế bào được bình thường hóa
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
-11
-10
-9
-8
-7
-6
-5
log [M]
00921
VEGFANGBII00025
AMG386
không VHH
không hAng2

125 / 125

Fig.37C

